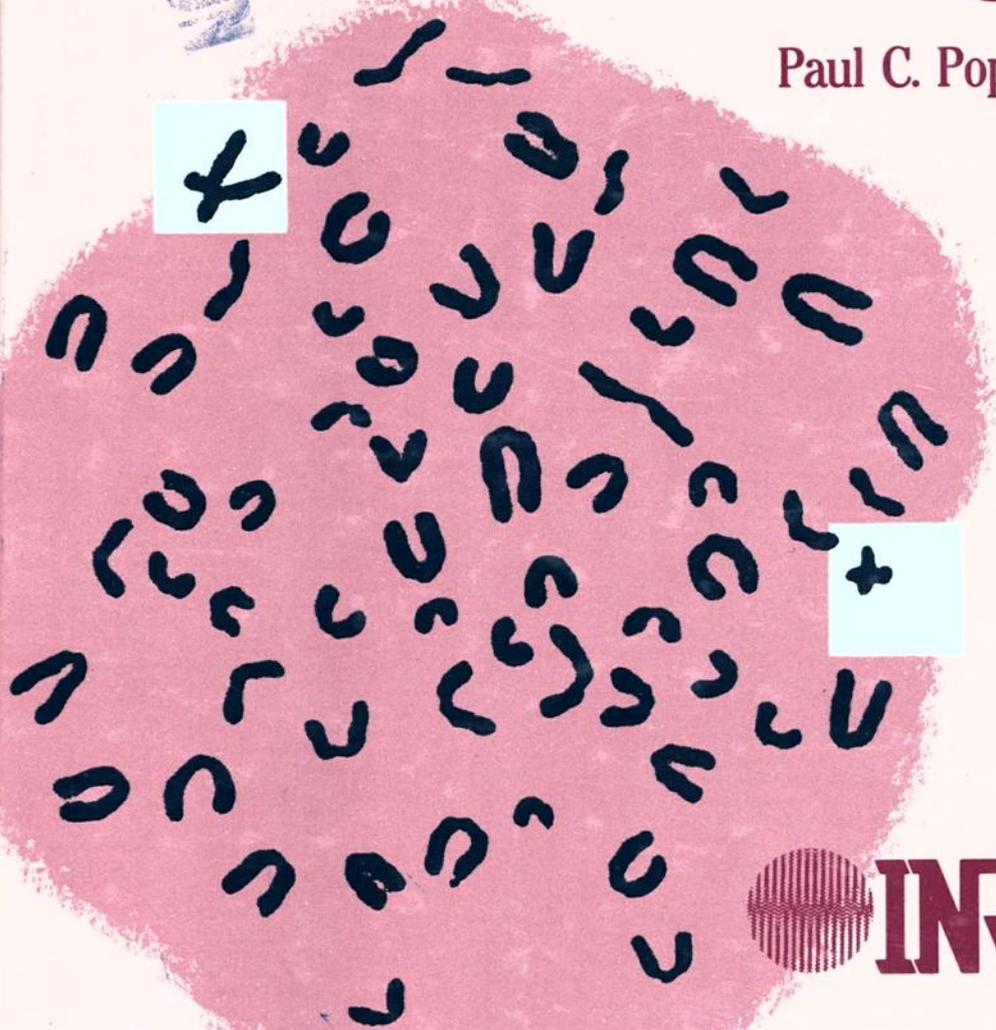


cytogénétique des mammifères d'élevage

Paul C. Popescu

COLLECTION



INRA

COLLECTION

cytogénétique des mammifères d'élevage

Paul C. Popescu

INSTITUT NATIONAL DE LA RECHERCHE AGRONOMIQUE
147, rue de l'Université, 75007 Paris

© INRA, Paris, 1989
ISBN : 2-7380-0093-2

Remerciements

Le manuscrit a été lu pour tout ou partie par Louis Ollivier, Jean Genermont, Nathan Fechheimer, Jean de Grouchy, Denise Boyajeau et Richard Tomassone, que je remercie pour leurs conseils et critiques.

Je tiens à remercier aussi mes collègues du Laboratoire de Cytogénétique de Jouy, car, sans leur collaboration, beaucoup des pages qui suivent n'auraient pas pu être écrites.

Je suis très reconnaissant également à Madame Christiane Faivet de l'aide qu'elle m'a fournie pour la réalisation du manuscrit, à Joël Gallé pour les illustrations et à Madame Annie Pech pour la liste bibliographique.

Sommaire

	Page
INTRODUCTION	9
CHAPITRE I — Historique	
A — La cytogénétique humaine	13
B — La cytogénétique des animaux de ferme	18
CHAPITRE II — Principaux types d'anomalies chromosomiques	
A — Les anomalies de nombre	21
B — Les anomalies de structure	23
CHAPITRE III — Le caryotype normal et anormal des principales espèces d'animaux de ferme	
<i>Le bœuf domestique (Bos taurus L.)</i>	
A — Le caryotype normal	25
B — Les anomalies chromosomiques	30
1. <i>La translocation Robertsonienne 1/29</i>	31
a) L'origine de la translocation 1/29	33
b) Les effets de la translocation 1/29	33
c) La politique d'éradication et ses conséquences	40
2. <i>Le freemartinisme</i>	41
3. <i>Autres anomalies de structure</i>	43
4. <i>Anomalies structurales des chromosomes sexuels</i>	43
a) Translocation X/autosome	43
b) Déletions de l'X	44
5. <i>Anomalies de nombre</i>	44
a) Les hétéroplœidies euploïdes	44
b) Les hétéroplœidies aneuploïdes	45
c) Les hétéroplœidies aneuploïdes autosomales	45
6. <i>Les chromosomes sexuels</i>	45
a) La constitution XXY	46
b) La constitution XYY	46
c) La constitution XXX	46

7. <i>L'intersexualité</i>	46
a) L'hermaphrodisme vrai	47
b) Le pseudo-hermaphrodisme femelle	47
c) Le pseudo-hermaphrodisme mâle	47
d) Le syndrome du testicule féminisant	47
e) La disgénésie gonadique	47
8. <i>Le polymorphisme de l'Y</i>	48
9. <i>Le chromosome Y des zébus</i>	48
10. <i>Le sexage de l'embryon bovin</i>	50
C — La carte génique des bovins	51
 <i>Le mouton (Ovis aries L.)</i>	
A — Le caryotype normal	53
B — Les anomalies chromosomiques	53
1. <i>Les anomalies de nombre</i>	53
2. <i>Les anomalies de structure</i>	53
a) Les translocations réciproques	53
b) Les translocations Robertsoniennes	55
3. <i>L'intersexualité</i>	57
C — La carte génique du mouton	57
 <i>La chèvre (Capra hircus L.)</i>	
A — Le caryotype normal	59
B — Les anomalies chromosomiques	60
1. <i>L'intersexualité</i>	60
2. <i>Les autres anomalies chromosomiques</i>	61
Les translocations Robertsoniennes	62
C — La carte génique de la chèvre	63
D — La comparaison du caryotype des bovins, ovins et caprins	63
 <i>Le cheval domestique (Equus caballus)</i>	
A — Le caryotype normal	65
B — Les anomalies chromosomiques	65
1. <i>Le syndrome de Turner</i>	69
2. <i>La trisomie de l'X</i>	69
3. <i>L'intersexualité</i>	69
4. <i>Les juments XY</i>	70
5. <i>Le freemartinisme</i>	70
C — Le caryotype de l'âne et du mulet	71
D — La carte génique du cheval	71

Le porc domestique (*Sus scrofa domestica* L.)

A — Le caryotype normal	73
B — Les anomalies chromosomiques	76
1. <i>L'intersexualité</i>	76
a) L'hermaphrodisme vrai	77
b) Le pseudo-hermaphrodisme mâle	77
c) Le pseudo-hermaphrodisme femelle	77
d) Le freemartinisme	78
e) Le testicule féminisant	78
2. <i>Les anomalies du nombre chromosomique</i>	78
a) Les autosomes	78
b) Les chromosomes sexuels	79
c) Le syndrome de Klinefelter (XXY)	79
d) Le syndrome de Turner	79
3. <i>Les anomalies de structure</i>	79
a) Les translocations de type Robertsonien	79
b) Les translocations réciproques	81
c) Les points de cassure	83
d) Les conséquences zootechniques et économiques des translocations réciproques	84
C — La carte génique du porc	88

Le lapin domestique (*Oryctolagus cuniculus*)

A — Le caryotype normal	91
B — Les anomalies chromosomiques	93
C — La carte génique du lapin	94

CONCLUSIONS ET PERSPECTIVES	95
GLOSSAIRE	97
BIBLIOGRAPHIE	99
INDEX DES MATIÈRES	113

Introduction

La cytogénétique animale, l'une des branches de la génétique, connaît un développement remarquable depuis une vingtaine d'années.

L'étude des chromosomes des organismes inférieurs et, en particulier, de la drosophile avait commencé à l'aube de la génétique, au début de notre siècle. Elle était facilitée par la taille exceptionnelle des chromosomes polyténiques et par leur nombre réduit. Au contraire, chez les vertébrés et plus particulièrement les mammifères et l'homme, les techniques utilisées jusqu'à la fin des années soixante ne permettaient pas une analyse chromosomique précise. De nouvelles méthodes mises au point vers 1960 ont permis d'abord de connaître le nombre exact des chromosomes humains, en 1956, et ensuite de découvrir la première anomalie chromosomique, la trisomie 21 (Lejeune *et al.*, 1959). Dans les années qui suivirent, la cytogénétique humaine, avec sa nouvelle branche, « pathologie chromosomique » a connu un essor considérable.

Entraînés par les succès de la cytogénétique humaine, de nombreux chercheurs se sont orientés, dès le début des années soixante, vers les espèces de mammifères. Pour la cytogénétique des espèces domestiques, la découverte en 1964 de la première anomalie chromosomique chez les bovins a eu un rôle considérable. Elle a montré, en effet, qu'il existe des anomalies chromosomiques chez les animaux de ferme, qu'elles sont nocives pour l'élevage, étant souvent liées à des troubles de la reproduction, et qu'elles peuvent être insidieusement et rapidement disséminées par l'insémination artificielle.

L'intérêt de la cytogénétique dans une zootechnie moderne commence à être reconnu et des nouveaux laboratoires sont créés, en particulier en Europe où plusieurs équipes commencent à étudier des populations animales importantes.

En 1970, le Professeur Rieck organise à l'Université Justus Liebig de Giessen le premier Colloque Européen de Cytogénétique des animaux domestiques. En 1977, à l'occasion de la troisième édition tenue à Jouy-en-Josas, les chercheurs américains (Etats-Unis et Canada) y assistent pour la première fois. Conscients du retard pris Outre Atlantique par cette discipline, ils organisent en 1978, à l'Université des East Lansing, Michigan, la réplique américaine des colloques européens. Depuis, ces réunions, tous les deux ans alternativement, font le point des recherches entreprises en Europe et aux Amériques, sur la cytogénétique des animaux de ferme.

Les résultats très nombreux de la cytogénétique humaine ont été présentés dans de nombreux ouvrages en langue française et anglaise. Citons, parmi les plus connus, celui de Turpin et Lejeune (1965) et l'*Atlas des anomalies chromosomiques* de De Grouchy et Turleau (1977), réédité récemment en français et traduit en anglais. En langue anglaise, les deux volumes de *Human Cytogenetics* de Hamerton (1971) et le volumineux ouvrage de Makino (1975) sont des livres de référence.

Pour les techniques de laboratoire le livre de Dutrillaux et Couturier, *La Pratique de l'analyse chromosomique* (1981), est un ouvrage indispensable à tout chercheur travaillant en cytogénétique car l'éventail complet et détaillé des méthodes de cytogénétique humaine est applicable à toutes les espèces de mammifères.

Les chromosomes des mammifères et les problèmes de l'évolution et du rôle des remaniements chromosomiques dans la spéciation ont fait l'objet de nombreux livres. Depuis la publication du classique *Les Chromosomes des Vertébrés* de Matthey (1948), ces problèmes ont été traités d'une manière très approfondie dans les ouvrages de Swanson (1957), Chiarelli et Capana (1973) et White (1973).

En revanche, la cytogénétique des animaux domestiques a fait l'objet de deux ouvrages seulement, tous deux en anglais : *Cytogenetics in Animal Reproduction* de W.C.D. Hare et E. Singh (1979) et *Cytogenetics of Livestock* de F.E. Eldridge (1985). Le premier ouvrage concerne surtout la pathologie chromosomique et le sujet est traité par groupes d'anomalies ou par syndromes et complété par une description des techniques. Le second présente d'abord les éléments de base de cytologie et cytogénétique et ensuite les anomalies chromosomiques des principales espèces de mammifères domestiques. Un dernier chapitre écrit par R.N. Schoffner est consacré à la cytogénétique des oiseaux.

Aussi proposons-nous, ici, de présenter le caryotype normal et les anomalies chromosomiques connues à ce jour pour chacune des principales espèces domestiques : bœuf, mouton et chèvre, porc, cheval et lapin. Nous avons délibérément choisi ces espèces dont le caryotype est bien connu, décrit par différentes techniques de marquage et chez lesquelles des anomalies chromosomiques ont déjà été décrites. Chaque espèce est traitée d'après le même plan :

- la description du caryotype normal,
- les principales anomalies,
- la carte génique.

Deux chapitres introductifs feront l'historique de la cytogénétique humaine et animale et la description des différents types d'anomalies chromosomiques.

La dernière partie sera consacrée aux conséquences des anomalies pour l'élevage et au développement futur de la cytogénétique des animaux de ferme.

En ce qui concerne la bibliographie, nous avons fait une sélection parmi toutes les références connues et retenu celles qui nous paraissaient les plus importantes.

Nous supposons connus les éléments de base de la génétique et de la cytologie, ainsi que les mécanismes des divisions mitotique et meiotique. Pour un rappel de ces notions le lecteur peut consulter l'un des ouvrages cités plus haut.

CHAPITRE I

Historique

A - La cytogénétique humaine

Le terme de « chromosome » fut proposé par Waldeyer en 1888, après avoir coloré, pour la première fois, des coupes cytologiques. Fleming, la même année, introduisit les concepts de « mitose » et « chromatine ». C'est également lui qui effectua un premier dénombrement des chromosomes humains dans les cellules de la cornée et trouva de 20 à 28 chromosomes. Plus tard, vers les années 1920, plusieurs chercheurs, dont Winiwarter (1921), trouvèrent 47 et 48 chromosomes. Le nombre de 48 fut généralement admis pendant plusieurs décennies. Les résultats de la première moitié de notre siècle se soldèrent par des échecs à cause de l'imperfection des techniques. L'étude des chromosomes était pratiquée, à l'époque, sur des coupes histologiques faites, le plus souvent, dans du tissu testiculaire. Il était alors très difficile de reconstituer un noyau en division, coupé sur plusieurs plans par le couteau du microtome.

Les techniques histologiques ont été abandonnées vers le milieu des années cinquante au profit des nouvelles méthodes cytogénétiques qui permettent une amélioration considérable de la qualité des préparations chromosomiques. Un premier élément important de ces nouvelles méthodes cytogénétiques a été l'utilisation des cultures cellulaires, comme source de cellules en division. Ensuite, le traitement hypotonique introduit par Hsu et Pomerat (1953), rendit possible le dénombrement et l'analyse précise des mitoses. En effet, les cellules en division, avant la fixation, subissent un choc hypotonique qui augmente plusieurs fois la taille du noyau et disperse les chromosomes à l'intérieur de celui-ci.

D'autres procédés techniques ont encore contribué à faciliter l'analyse chromosomique. Ainsi, le séchage à l'air, proposé par Rothfeld et Siminovich (1958) remplace le procédé d'écrasement utilisé jusqu'alors. Les cellules qui ont précédemment subi un choc hypotonique, fixées et étalées sur la lame donnent des préparations avec des chromosomes disposés en un seul plan, souvent sans chevauchement et parfaitement identifiables.

Pour augmenter le nombre de cellules en métaphase (le stade le plus propice à l'analyse), on a introduit l'emploi de la colchicine, couramment utilisée chez les végétaux.

L'utilisation du lymphocyte stimulé par les lectines, pour l'analyse chromosomique, à partir de 1960, a eu un rôle prépondérant pour le développement ultérieur de la cytogénétique. En raison de la facilité de prélèvement, la culture du lymphocyte isolé ou du sang intégral développé un peu plus tard, a permis d'étudier, du point de vue cytogénétique, de grandes populations humaines et animales.

Toutes ces techniques corroborées entre elles ont également permis la découverte d'un grand nombre d'anomalies chromosomiques.

L'année 1959 a été particulièrement riche en découvertes pour la cytogénétique humaine : la trisomie 21, le syndrome Klinefelter (XXY), les femmes XXX, le syndrome de Turner (XO), ainsi que la première mosaïque et la première double aneuploïde (XXY, + 21).

Ces découvertes remarquables sont dues au travail de trois équipes : Lejeune à Paris, Ford à Harwell et Patricia Jacobs à Edinbourg (Hamerton, 1982).

Durant la décennie qui suivit, il a été établi une longue liste d'anomalies chromosomiques, impliquées dans des malformations diverses, débilité mentale et troubles de fertilité. Des études faites sur les avortements spontanés ont montré l'importance majeure des anomalies chromosomiques dans la mortalité embryonnaire : environ la moitié des avortements précoces est due aux anomalies chromosomiques.

La mise au point de la technique de culture des cellules prélevées par amniocentèse a permis de détecter les anomalies chromosomiques chez le fœtus in utéro et d'introduire le diagnostic prénatal et le conseil génétique.

La cytogénétique connaît un nouvel essor depuis le début des années soixante-dix. Dans une série de publications dont la première remonte à 1968, Caspersson et ses collègues de l'Institut Karolinska de Stockholm ont montré que les chromosomes de Vicia colorés à un fluorochrome dérivé de l'acridine et examiné en fluorescence, apparaissent constitués d'une succession de bandes sombres et de bandes claires. On appellera ce type de dessin des « bandes Q », car le premier fluorochrome utilisé était la quinacrine moutarde. Le dessin des bandes Q s'avère constant et caractéristique pour les deux homologues d'une paire donnée. Appliquée un peu plus tard aux chromosomes humains, cette technique permet l'identification de chaque paire et le dépistage d'éventuelles modifications survenues dans la morphologie des chromosomes (Caspersson *et al.*, 1970).

Le fluorochrome se lie spécifiquement aux régions riches en adénine-thymine (A-T) et les bandes fluorescentes et sombres observées reflètent la variété de la composition en bases de l'ADN. D'autres fluorochromes se liant spécifiquement aux zones riches en A-T ont été utilisés depuis, tel le Hœchst 33258/(2-/2[4-hydroxyphenyl] - 6 benzimidazolyl - 6 - (1-méthyl-4-piperazyl) benzimidazole) (Hilwig et Gropp, 1972) ou le DAPI (4'-6-diamidino-2-phénylindole) (Lin et Alfí, 1976). L'image est parfois renforcée par la combinaison de deux fluorochromes ou à l'aide d'un antibiotique tel l'actinomycine D, non-fluorescent, mais qui se lie aux régions riches en guanine-cytosine (G-C) de l'ADN.

Dans les années qui suivirent les premiers articles de l'équipe de Caspersson, d'autres techniques ont été décrites dont les plus importantes sont les bandes G, R et C. Elles impliquent des traitements divers mais ont un point commun : une coloration finale au Giemsa.

Les bandes G peuvent être obtenues par différents traitements enzymatiques, ou à l'aide des agents dénaturants. Quel que soit le procédé, la coloration finale au Giemsa donne une succession de bandes claires et foncées caractéristiques pour chaque paire chromosomique. D'une manière générale, les bandes G très colorées par le Giemsa, correspondent aux bandes Q fluorescentes.

Le mécanisme de formation des bandes G n'est pas encore très bien élucidé. Il semble que l'apparition des bandes plus ou moins colorées soit due à une dénaturation différentielle de l'ADN, mais aussi de certaines protéines chromosomiques et, en particulier, des protéines acides (Seabright, 1971).

La technique des bandes R mise au point par Dutrillaux et Lejeune (1971) met en évidence, par une coloration au Giemsa, après une dénaturation par la chaleur, le contre-type des bandes G. La formation de ces bandes « reverses » serait provoquée par la dénaturation par la chaleur de certaines protéines chromosomiques.

Une variante des bandes R est obtenue après l'incorporation par les cellules vivantes d'un analogue de la thymine, le BrdU (5-Bromodéoxyuridine) et coloration à l'acridine orange (Dutrillaux *et al.*, 1973). En effet, le BrdU ajouté au milieu de culture au cours de la phase de synthèse - S - est incorporé à la place de la thymine exogène, non synthétisée par la cellule. Colorés à l'acridine orange et observés en fluorescence, les chromosomes présenteront des images différentes selon la dose de BrdU donnée, le moment du cycle cellulaire où la cellule se trouve et la durée du traitement.

Ainsi un « pulse » final de 4 heures en présence du BrdU donnera une coloration rouge sombre de certaines parties du chromosome qui ont une élongation spécifique alors que le reste du chromosome émettra une fluorescence verte. Un « pulse » terminal plus long de 7 - 8 heures donnera des bandes R de couleur verte brillante tandis que les segments correspondants en bandes G et à l'hétérochromatine qui effectuent la réplication en présence du BrdU, émettront une fluorescence rouge sombre (Dutrillaux *et al.*, 1973).

Cette technique est parfaitement reproductible, n'altère pas la structure du chromosome et, pour ces raisons, est utilisée dans de nombreux laboratoires comme méthode de routine.

Une autre variante, impliquant différents traitements après l'incorporation du BrdU, évite l'utilisation de la fluorescence, car les chromosomes sont colorés au Giemsa (Perry et Wolff, 1974).

De nombreux fluorochromes et antibiotiques se liant d'une façon spécifique à certaines séquences de bases de l'ADN sont utilisés ces dernières années, pour obtenir différentes variantes des « bandes R » ou plusieurs types de bandes sur la même mitose.