

THÈSE DE DOCTORAT EN SCIENCES VÉTÉRIAIRES

Résumé

Orientation : Médecine Vétérinaire

Titre de la thèse en Français :

Contribution au clonage positionnel de la mutation callipyge

Titre de la thèse en Anglais :

Contribution to the positional cloning of the callipyge mutation

Candidat : Karin Segers

Promoteur : Prof. M. Georges

Co-promoteur : Dr. Charlier

Département et Service : département des Productions Animales, Unité de Génétique Factorielle et Moléculaire

Date de la défense publique : le 31 janvier 2003

Composition du Jury : A. Ferguson Smith, D. Vaiman, J. Martial, V. Bours, B. China, F. Bureau, J. Mainil, A. Vanderplasschen, D. Desmecht, M. Georges, P. Lekeux

DESCRIPTION DU SUJET DE RECHERCHE ABORDÉ

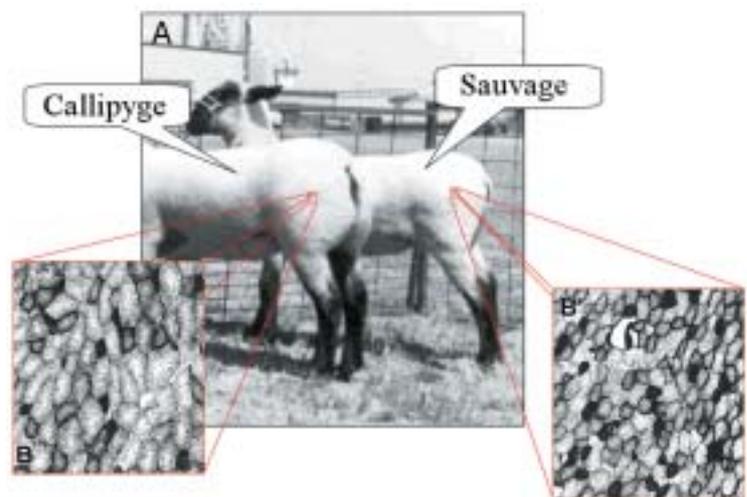
Le phénotype callipyge est une hypertrophie musculaire généralisée décrite chez le mouton. Elle est de nature héréditaire et entièrement déterminée par un seul locus (le locus CLPG), localisé au niveau de l'extrémité télomérique du chromosome ovin 18. La particularité du phénotype callipyge qui justifie son étude approfondie est son mode de transmission non-Mendélien unique qualifié de « surdominance polaire » : seul les individus hétérozygotes ayant hérité la mutation callipyge de leur père (génotype $+_{Mat}/CLPG^{Pat}$) expriment le phénotype callipyge (Cockett *et al.*, 1996).

L'étude de ce phénomène est principalement motivé par son intérêt biologique fondamental mais est également susceptible de contribuer à une meilleure compréhension des pathologies héréditaires complexes caractérisées par des effets « polaires » tant chez l'homme que chez les animaux.

RÉSULTATS

Le laboratoire a opté pour une approche de type clonage positionnel. Celle-ci comprend les étapes suivantes : (i) localisation du locus CLPG par études de liaison génétique, (ii) clonage de l'ensemble de l'ADN dans la région identifiée sous forme d'une collection de clones plasmidiques de type « BAC » (chromosomes artificiels bactériens), (iii)

caractérisation de la région d'intérêt par séquençage et annotation de la séquence par des méthodes de bioinformatique, (iv) recherche de la mutation causale par reséquençage, et (v) étude de l'effet de la mutation à l'aide d'études dites fonctionnelles. Karin Segers a contribué à chacune de ces étapes. Grâce à ses travaux, nous savons maintenant que (i) le locus CLPG correspond à un domaine chromosomique comprenant plusieurs gènes soumis à l'empreinte parentale, certains exprimés à partir de l'allèle paternel, d'autres à partir de l'allèle maternel, (ii) que la mutation CLPG est une mutation ponctuelle affectant un élément



Comparaison des phénotypes sauvage et callipyge

non-codant qui régule le taux d'expression des gènes du domaine CLPG en cis dans le muscle squelettique, (iii) qu'à cause de cet effet en cis, les individus de génotype $+^{Mat}/CLPG^{Pat}$ ont un profil d'expression génique unique qui est certainement responsable de l'expression du phénotype.

CONCLUSIONS ET PERSPECTIVES

Les travaux de Karin Segers suggèrent fortement qu'il existe au niveau du locus CLPG une interaction en trans entre les produits de gènes soumis à une empreinte réciproque: des gènes codant pour des protéines exprimés à partir de l'allèle paternel, et des gènes non-codant exprimés à partir de l'allèle maternel. Ceci est un phénomène tout à fait unique et nouveau. Ses travaux suggèrent également que le produit du gène DLK1 entraîne directement, par sa

surexpression, l'hypertrophie musculaire des animaux callipyges. Enfin, les travaux de Karin posent la question du mode de fonctionnement de l'élément régulateur affecté par la mutation CLPG. L'ensemble de ces questions font l'objet de nouvelles thèses de doctorats dans le laboratoire.

REMERCIEMENTS

Les travaux réalisés dans le cadre de cette thèse ont été financés par le FNRS, le FRSM, et la Communauté Française de Belgique.

RÉFÉRENCES

COCKETT N., JACKSON S., SHAW T., FARNIR F., SNOWDER G., NIELSEN D., GEORGES M. Polar overdominance at the ovine callipyge locus. *Science*, 1996, **273**, 236-238.

PUBLICATIONS ISSUES DU TRAVAIL DE THÈSE

SEGERS K., VAIMAN D., BERGHMANS S., SHAY T., BEEVER J., COCKETT N., GEORGES M., CHARLIER C. Construction and characterization of an ovine BAC contig spanning the callipyge locus. *Anim. Gen.*, 2000, **31**, 352-359.

BERGHMANS S., SEGERS K., SHAY T., GEORGES M., COCKETT N. E., CHARLIER C. Breakpoint mapping positions the callipyge gene within a 400 kilobase chromosome segment containing the Dlk1 and Gtl-2 genes. *Mamm. Gen.*, 2001, **12**, 183-185.

CHARLIER C., SEGERS K., WAGENAAR D., KARIM L., BERGHMANS S., JAILLON O., SHAY T., WEISSENBACH J., COCKETT N., GYAPAY G., GEORGES M. Human - ovine comparative sequencing of a 250 kilobase imprinted domain encompassing the callipyge (*clpg*) gene and identification of six imprinted transcripts: *DLK1*, *DAT*, *GTL2*, *PEG11*, *antiPEG11* and *MEG8*. *Gen. Res.*, 2001, **11**, 850-862.

CHARLIER C., SEGERS K., KARIM L., SHAY T., GYAPAY G., COCKETT N., GEORGES M. The callipyge (CLPG) mutation enhances the expression of the coregulated *DLK1*, *GTL2*, *PEG11* and *MEG8* genes in *cis* without affecting their imprinting status. *Nat. Gen.*, 2001, **27**, 367-369.

SMIT M., SEGERS K., SHAY T., BARALDI F., GYAPAY G., SNOWDER G., GEORGES M., COCKETT N., CHARLIER C. Mosaicism of Solid Gold supports the causality of a non-coding A to G transition in the determinism of the callipyge phenotype. *Genetics*, 2003, **163**, 453-456.