



Introduction

Les chevaux américains Curly connaissent un engouement aux États-Unis ainsi que dans divers pays d'Europe. Cela s'explique en partie par le fait que ces chevaux frisés sont hypoallergéniques ou semblent au moins favoriser une certaine désensibilisation (Felix *et al.*, 1996). L'hypothèse d'un lien entre hypoallergénie et frisure est souvent évoquée (moindre dissémination des squames). Or, les chevaux Curly présentent une grande variabilité de frisure (allant de poils raides : straight, à des poils très frisés : curly). Cette diversité pourrait s'expliquer, selon l'hypothèse défendue par l'International Curly Horse Organization (ICHO, registre américain de référence), par les différentes combinaisons alléliques de deux gènes codant pour la frisure, l'un dominant, et l'autre récessif.

Nous avons initié cette étude, avec un double objectif : mieux caractériser l'hypoallergénicité des chevaux Curly et identifier le gène dominant responsable de la frisure.

1. Matériel et méthodes

1.1. Analyse de l'allergénicité d'un panel d'animaux

1.1.1. Sérothèque de patients

Les sérums d'une dizaine de patients ont été sélectionnés sur la base d'un questionnaire et d'un examen clinique (manifestations cliniques objectives : test cutané positif, test ImmunoCAP cheval >0,70 kun). Les patients recrutés étaient naïfs en termes de désensibilisation. Les sérums de patients fortement allergiques, utilisés comme témoins positifs, ont été fournis par la société ALK.

1.1.2. Préparation d'une banque d'allergènes

Les squames de 39 chevaux d'élevage français ont été prélevées par aspiration (aspirateur domestique, équipé d'un embout porte filtre). Au total, dix chevaux selle français (Témoins) et 29 chevaux de race Curly, regroupés en 2 groupes de frisures (21 Curly frisés, 8 Curly straight) ont été analysés. Les filtres (DUSTREAM Filtrés : DU-FL-1, INDOOR biotechnologies) contenant les squames, poils et poussières ont été congelés immédiatement.

1.1.3. Comparaison des profils protéiques des squames et étude du sérum des patients

Les protéines totales ont été extraites à partir des squames dans un tampon Laemmli. L'analyse en SDS-Page des protéines a été réalisée en utilisant un gel d'acrylamide (20%) coloré au Bleu de Coomassie (résultats non présentés). Les protéines ont ensuite été transférées sur une membrane puis mises en présence des sérums des patients. La membrane a ensuite été révélée au NBT-BCIP (révélation colorimétrique à la phosphatase alcaline).

1.2. Cartographie du gène Curly dominant

1.2.1. Génotypage

Le génotypage (puce Illumina EQUINESNP50) de 69 animaux d'élevages français et américains (51 Curly et 18 Straight) a été réalisé afin d'effectuer une étude d'association pangénomique (GWAS). L'étude GWAS, en comparant le génotype des individus Curly et Straight, a pour but de déterminer une association de certains polymorphismes avec le phénotype frisure et d'identifier un intervalle de localisation du gène responsable de la frisure.

1.2.2. Séquençage génome entier et identification de la mutation causale

Pour identifier les mutations causales, le séquençage du génome entier d'un cheval frisé (C) et d'un cheval straight (S) a été réalisé par la plate-forme PlaGe à Toulouse (HiSeq2000). Seuls les polymorphismes situés dans l'intervalle de localisation (hétérozygotes chez l'animal frisé, absents chez l'animal straight) et touchant une séquence codante ont été sélectionnés. L'impact potentiel de ces polymorphismes sur les protéines a été évalué à l'aide des logiciels de prédiction SIFT et Polyphen. Les polymorphismes candidats ont été analysés par séquençage Sanger de l'ensemble des 69 individus. Les séquences ont été analysées avec le logiciel NovoSNP (Weckx *et al.*, 2005).