Analyse du caryotype de *Pan paniscus*. Comparaison avec les autres *Pongidae* et l'*Homme*

B. Dutrillaux, M. O. Rethoré et J. Lejeune

Institut de Progenèse, Paris Collaboration technique: Martine Lombard

Reçu le 3 fevrier 1974

Analysis of the Karyotype of *Pan paniscus*. Comparison with Other *Pongidae* and *Man*

Summary. The analysis of the karyotype of pygmee Chimpanzee (Pan paniscus), and its comparison with the one of Pan troglodytes shows some differences on chromosomes 2q, 7, 13, and 22.

The study of the chromosomal rearrangements differentiating the *Chimpanzees* and the others *Anthropoids* and *Man* allows us to propose a filiation of ancestral species.

Résumé. L'analyse du caryotype du Chimpanzé nain Pan paniscus, et sa comparaison avec celui de Pan troglodytes révèle quelques différences portant sur les chromosomes 2q, 7, 13 et 22.

L'étude des remaniements chromosomiques séparant les *Chimpanzés* des autres *Primates anthropoïdes* et de l'*Homme* permet de proposer une filiation des espèces ancestrales.

L'étude et la comparaison des caryotypes des *Primates anthropoïdes* et de l'*Homme* ont déjà fait l'objet de nombreuses publications (Chiarelli, 1962; Hamerton *et al.*, 1963; Grouchy *et al.*, 1972; Turleau *et al.*, 1973).

Nous avons montré que devant le nombre et la complexité des réarrangements structuraux des chromosomes, séparant les espèces actuelles, il est nécessaire de faire une analyse de stades prométaphasiques, où les informations sont nombreuses, et par toutes les techniques de marquage en bandes, actuellement disponibles (Lejeune et al., 1973; Dutrillaux et al., 1973 b; Dutrillaux, 1975).

Nous analyserons ici le caryotype de *Pan paniscus*, forme maine de *Chimpanzé*, que nous comparerons à celui de *Pan troglodytes*. Une comparaison précise avec les caryotypes d'Homo sapiens et de Gorilla gorilla et de Pongo pygmaeus demanderait ici un trop long développement, aussi pourra-t-on se reporter à d'autres publications (Lejeune et al., 1973; Dutrillaux et al., 1973 b; Dutrillaux, 1975).

Matériel et méthodes

Trois femelles, en captivité au zoo d'Anvers ont été examinées. Après culture de cellules sanguines selon la microméthode habituelle, les techniques de bandes Q, R, T, G11, B.U.D.R.-acridine orange (Caspersson et al., 1970; Dutrillaux et Lejeune, 1971; Dutrillaux, 1973; Gagné et Laberge, 1972; Dutrillaux et al., 1973 a) ont été utilisées.

La comparaison avec $Pan\ troglodytes$ a été réalisée à partir des résultats obtenus sur les 6 spécimens déjà analysés (Lejeune $et\ al.$, 1973).

Aide financière: CNRS, ERA n° 47 et CEA, contrat n° 273.

Résultats

Technique de coloration par le Giemsa. Les caryotypes des deux formes sont très semblables. Comme l'avaient déjà noté Hamerton et al. (1963), une seule différence évidente porte sur une paire de petits chromosomes, acrocentriques chez Pan troglodytes et métacentriques chez Pan paniscus.

En fait, dès les premiers résultats des techniques de marquage (Lejeune, 1973), il apparut qu'il s'agissait du même chromosome, correspondant vraisemblablement au 22 humain, dont le bras court, hétérochromatique et variable, est en moyenne très développé chez *Pan paniscus*.

Technique des bandes Q. La très grande ressemblance des caryotypes des deux formes de Pan est largement confirmée.

Le bras court du 22 de *P. paniscus* émet une intense fluorescence confirmant l'hypothèse qu'il s'agit bien d'hétérochromatine. Il convient de remarquer ici l'absence de réciprocité entre bandes Q et R pour ces segments (fig. 1).

Les bandes Q terminales, en excès par rapport à *Homo sapiens*, déjà observées chez *Pan troglodytes* et *Gorilla gorilla* (Lejeune *et al.*, 1973; Dutrillaux *et al.*, 1973 b) sont retrouvées ici. Elles sont exactement observées sur les mêmes bras chromosomiques que chez *Pan troglodytes*.

Technique des bandes R. L'étude d'un grand nombre de prométaphases apporte quelques informations complémentaires:

Les chromosomes 13 de *Pan paniscus* sont tout à fait comparables à ceux d'*Homo sapiens* et des autres *Primates anthropoïdes*. Par contre, *Pan troglodytes* possède deux bandes en excès, situées entre q 14.3 et q 21.1.

Les chromosomes 7 de *Pan paniscus* possèdent un bras court identique à celui des 7 de *Pan troglodytes* et d'*Homo sapiens*. Par contre, le bras long est légèrement différent: la bande foncée q 22 parait relativement trop proche du centromère; la bande claire q 31 est trop longue et se trouve subdivisée par une bande sombre sans correspondance réelle chez *Homo sapiens* et *Pan troglodytes* (fig. 2).

Il pourrait donc s'agir, soit d'une inversion paracentrique, soit d'une insertion de deux bandes. La mesure de l'indice centromérique des chromosomes 7 de chaque espèce, représentés à la figure 2, donne les résultats suivants:

 $egin{array}{ll} \textit{Homo sapiens} &= 0.380 \pm 0.014 \ \textit{Pan troglodytes} &= 0.383 \pm 0.013 \ \textit{Pan paniscus} &= 0.345 \pm 0.020 \ \end{array}$

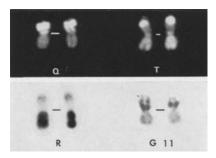


Fig. 1. Chromosomes 22 de Pan paniscus (bandes Q, T, R et G11)

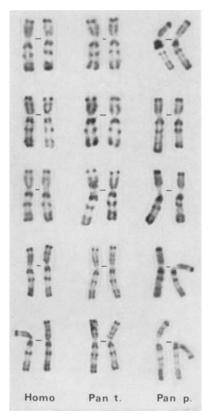


Fig. 2. Comparaison des chromosomes 7 de *Homo sapiens*, *Pan troglodytes* et *Pan paniscus* (bandes R)

Pour ces mesures, la région juxta centromérique, variable et probablement hétérochromatique, a été exclue.

Dans un premier temps, il apparait donc que les chromosomes 7 d'*Homo sapiens* et de *Pan troglodytes* peuvent avoir un même indice centromérique, alors que celuici pourrait être plus faible chez *Pan paniscus*.

Une comparaison statistique précise entre les 2 formes de *Chimpanzés*, réalisée à partir de 26 éléments de *Pan paniscus* et 22 éléments de *Pan troglodytes*, montre que les indices centromériques sont significativement différents ($\delta = 46$, t = 9.5).

Par conséquent, dans la mesure où les bras courts semblent identiques, et où *Pan paniscus* possède un indice centromérique plus faible, l'hypothèse d'une insertion de 2 bandes dans le bras long du chromosome 7 de cette espèce semble la plus probable.

Les chromosome 2p sont identiques (fig. 3).

Par contre, les 2 q diffèrent par leur région juxta-centromérique: le bras court est plus réduit chez *Pan paniscus*, alors que le bras long porte une à deux bandes de plus que chez *Pan troglodytes*. Il pourrait donc s'être produit une inversion péricentrique, dont les points de cassure seraient situés près du centromère.

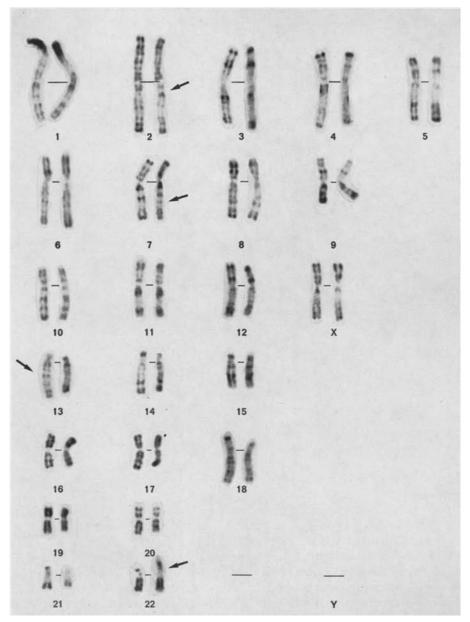


Fig. 3. Comparaison du caryotype en bandes R de $Pan\ troglodytes$ (chromosomes de gauche) et de $Pan\ paniscus$ (chromosomes de droite)

Discussion

Les deux formes de *Chimpanzés* possèdent assurément des caryotypes très proches. Les analogies de structure sont totales pour 20 paires de chromosomes (fig. 3).

Quatre éléments sont différents: les chromosomes 2q, 7, 13 et 22.

Pour les chromosomes 22, il s'agit essentiellement d'un excès d'hétérochromatine sur le bras court, chez *Pan paniscus*.

Pour les chromosomes 2q, l'inversion péricentrique qui différencie les deux formes s'est vraisemblablement produite tardivement dans la lignée de *Pan paniscus*. En effet, nous avons déjà signalé l'intérêt de l'étude des remaniements subis par les chromosomes 2 dans l'évolution, et montré que *Gorilla gorilla* et *Pan troglodytes* possèdent les mêmes 2q (Dutrillaux et al., 1973 b).

Il est donc probable qu'un ancètre commun à ces deux espèces possèdait cet élément. D'autre part, nous avons montré (Dutrillaux, 1975) que le chromosome 2q de *Pongo pygmaeus* diffère des précédents par une inversion péricentrique, et que le chromosome 2 humain résulte de la fusion des 2p et 2q encore observés chez *Pan troglodytes*.

En considérant les formes ancestrales des espèces actuelles, il est donc possible d'établir la filiation, pour les chromosomes 2q:

$$P. pygmaeus \rightarrow G. gorilla, P. troglodytes \begin{picture}(100) \put(0,0){\line(1,0){100}} \put(0,0)$$

Pour les chromosomes 2p, nous avons, de même, établi la séquence (Dutrillaux, 1975):

P. pygmaeus et G. gorilla \rightarrow P. troglodytes et P. paniscus \rightarrow H. sapiens

Au total nous pouvons donc établir, pour les chromosomes 2, la généalogie représentée à la fig. 4.

Les chromosomes 7 diffèrent par la présence de deux bandes en plus, chez Pan paniscus, et les chromosomes 13 par la présence de deux bandes en plus chez Pan troglodytes.

Dans la mesure où les chromosomes 7 de *Pan troglodytes* et les chromosomes 13 de *Pan paniscus* sont les mêmes que ceux d'*Homo sapiens*, nous pouvons en conclure, logiquement, qu'il y a eu insertion de matériel chromosomique dans les chromosomes 7 d'un ancètre de *Pan paniscus* et dans les chromosomes 13 d'un ancètre de *Pan troglodytes*.

L'origine de ces segments excédentaires reste inconnue. Cependant, dans la mesure où il existe une homologie presque totale entre les structures chromosomiques de l'*Homme* et des *Pongidae* (Dutrillaux, 1975), on peut imaginer d'une part que ces segments excédentaires sont équivalents, et d'autre part qu'ils dérivent de l'un des rares chromosomes qui semblent posséder plus de bandes chez les autres *Pongidae* et chez l'*Homme*, comme par exemple le chromosome 9.

Toutefois, il faudrait alors admettre que ces 2 insertions d'une même structure, dans des chromosomes différents résultent d'un même mécanisme de remaniement, dont le modèle nous échappe totalement.

De plus, si les deux insertions dérivaient d'un même mécanisme, il faudrait supposer que l'accident chromosomique s'est nécessairement produit lors du clivage des lignées de *Pan paniscus* et de *Pan troglodytes*. Dans ce cas, la généalogie de ces espèces serait voisine de celle indiquée à la fig. 5a.

Inversement, si les deux insertions sont indépendantes, elles peuvent s'être produites plus tardivement, alors que les lignées des deux formes étaient déjà

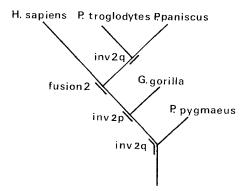
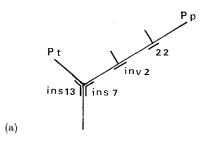


Fig. 4. Evolution présumée des chromosomes 2p et 2q



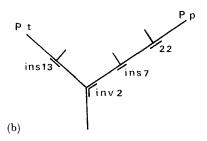


Fig. 5a et b. Représentation des accidents survenus dans les lignées de $Pan\ troglodytes\ (P\ t)$ et de $Pan\ paniscus\ (P\ p)$

individualisés. Dans ce cas, l'un quelconque des remaniements que nous avons décrit, comme par exemple l'inversion du 2q de *Pan paniscus* pourrait être contemporaine, ou responsable, du clivage de deux lignées (fig. 5b).

Remerciements. Nous remercions très vivement tous ceux qui nous ont permis d'effectuer les prélèvement nécessaires aux examens chromosomiques, en particulier la Société Royale de Zoologie d'Anvers, le Professeur W. Van den Berghe et le Professeur Dr. Vétérinaire J. Mortelmans.

Bibliographie

- Caspersson, T., Zech, L., Johansson, C., Modest, E. J.: Identification of human chromosomes by DNA binding fluorescent agents. Chromosoma (Berl.) 30, 215 (1970)
- Chiarelli, B.: Comparative morphometric analysis of primate chromosomes. The chromosomes of anthropoid apes and of man. Caryologia 15, 99 (1962)
- Dutrillaux, B.: Nouveau système de marquage chromosomique: les bandes T. Chromosoma (Berl.) 41, 395 (1973)
- Dutrillaux, B.: Sur la nature et l'origine des chromosomes humains. Monographie des Annales de Génétique. Paris: L'Expansion Ed. 1975
- Dutrillaux, B., Laurent, C., Couturier, J., Lejeune, J.: Coloration par l'acridine orange de chromosomes préalablement traités par le 5 bromodéoxyuridine (BUDR). C.R. Acad. Sci. (Paris) 276, 3179 (1973a)
- Dutrillaux, B., Lejeune, J.: Sur une nouvelle technique d'analyse du caryotype humain. C.R. Acad. Sci. (Paris) 272, 2638 (1971)
- Dutrillaux, B., Rethoré, M. O., Prieur, M., Lejeune, J.: Analyse de la structure fine des chromosomes du Gorille (Gorilla gorilla). Comparaison avec Homo sapiens et Pan troglodytes. Humangenetik 20, 343 (1973b)
- Gagné, R., Laberge, C.: Specific cytological recognition of the heterochromatic segment of number 9 chromosome in man. Exp. Cell Res. 73, 239 (1972)
- Grouchy, J. de, Turleau, C., Roubin, M., Klein, M.: Evolutions caryotypiques de l'homme et du chimpanzé. Etude comparative de bandes après dénaturation ménagée. Ann. Génét. 15, 79 (1972)
- Hamerton, J. L., Klinger, H. P., Mutton, D. E., Lang, E. M.: The somatic chromosomes of the hominoidea. Cytogenetics 2, 240 (1963)
- Lejeune, J.: Scientific impact of the study of fine structure of chromatids in chromosome identification. Nobel Foundation Stockholm, pp. 16—24. New York-London: Academic Press 1973
- Lejeune, J., Dutrillaux, B., Rethoré, M. O., Prieur, M.: Comparaison de la structure fine des chromatides d'Homo sapiens et de Pan troglodytes. Chromosoma (Berl.) 43, 423 (1973)
- Turleau, C., Grouchy, J. de, Klein, M.: Phylogénie chromosomique de l'homme et des primates hominiens (Pan troglodytes, Gorilla gorilla et Pongo pygmaeus). Essai de reconstitution du carvotype de l'ancêtre commun. Ann. Génét. 15, 225 (1972)

Dr. B. Dutrillaux Institut de Progenèse 15, rue de l'Ecole de Medecine F-75006 Paris, France