

**Résumé:** Nous complétons dans le présent article nos travaux précédents ( Lucotte *et al.* 2014, *Int J Sciences*, 3(7):28-32) sur les marqueurs ADN de Karl Wilhelm Naundorff par l'étude du profil de son chromosome Y. Pour quatorze des STRs Y étudiés les valeurs alléliques sont identiques à celles d'Hugues de Bourbon, le descendant actuel de Naundorff à la 4<sup>ème</sup> génération de la branche aînée. Ces résultats établissent qu'Hugues de Bourbon est relié à K.W. Naundorff par sa lignée paternelle.

**Mots clés :** marqueurs du chromosome Y, courtes répétitions en tandem (STRs), valeurs alléliques ; Hugues de Bourbon ; membre de la famille de Naundorff.

### Introduction :

En 1793, durant la Révolution Française, le roi de France Louis XVI et la reine Marie-Antoinette furent décapités . Leurs enfants, Marie-Thérèse-Charlotte (1778-1851) et Louis-Charles (1785-1795?) restèrent prisonniers au Temple (à Paris), où ils survécurent à la mort de leurs parents. D'après les archives officielles Louis-Charles (Louis XVII), mourut de tuberculose au Temple le 8 juin 1795. Mais cette version de sa mort fût sans cesse l'objet de questionnements ; l'une des théories persistante soutient que c'est un substitué qui mourut le 8 juin 1795.

Par la suite, un certain nombre d'individus prétendirent être Louis XVII. Le plus fameux d'entre eux, Karl Wilhelm Naundorff (1785?-1845), vint à Paris en 1833 ; Il réussit à y rassembler suffisamment de preuves pour convaincre d'anciens serviteurs de la Cour de Versailles et des Tuileries de son ascendance. Naundorff fut déporté vers l'Angleterre par les autorités françaises en 1836 ; il mourut à Delft en Hollande le 10 août 1845.

Récemment (Lucotte *et al.*, 2014), à partir de résultats reproductibles d'ADN extraits des cheveux authentiques de Naundorff, nous avons déterminé son sous-haplogroupe ADN- mitochondrial ; cet haplogroupe est HVO, selon la nomenclature ADNmt moderne .

Dans la présente étude, nous comparons le profil STR du chromosome Y de Naundorff à celui, déjà publié (Lucotte et Roy-Henry, 2014), d'Hugues de Bourbon, né en 1974, le descendant actuel de Naundorff à la 4<sup>ème</sup> génération. Le but de cette étude a été de vérifier le lien de descendance patrilinéaire d'Hugues à partir de Karl Naundorff.

### Matériel et méthodes :

L'ADN génomique de Naundorff utilisé est celui qui a été extrait de son cheveu numéro 3 (Lucotte *et al.*, 2014), qui possédait un bulbe et présentait de nombreuses pellicules.

De cet ADN, nous avons amplifié 15 STRs- Y en utilisant le kit d'amplification AmpFirst Identifier ( Amp FIRSTY filer <sup>TM</sup>, Applied Biosystems), selon les instructions données par le fabricant ; ce kit d'amplification est spécialement adapté à l'étude de l'ADN ancien .

Les résultats de l'amplification du gène amélogénine ont déjà été publiés (Lucotte *et al.* ,2014), montrant que Naundorff est XY. Les quinze STRs étudiés sont les suivants : DYS19 (=DYS394), DYS385a. et b., DYS389I et II, DYS390 (=DYS708), DYS391, DYS392, DYS393 (=DYS395), DYS438, DYS439 (=GATA-A4), DYS448, DYS456, DYS458 et DYS635 (=GATA-C4). Afin de détecter les plus longs allèles STR, nous avons procédé à trois analyses successives avec un degré de sévérité progressif.

## Résultats :

Le tableau 1 montre les résultats obtenus comparant 15 valeurs alléliques d'STRs-Y de Naundorff, à celles correspondantes à Hugues de Bourbon.

Au premier passage, les valeurs alléliques de Naundorff sont identiques à celles déjà publiées (Lucotte et Roy-Henry, 2014) d'Hugues concernant : DYS19 =14, DYS385a =11, DYS389I = 13, DYS391=12, DYS392 = 13, DYS393 = 13, DYS438 = 12, Y-GATA-A4 =12, DYS456 = 15 et DYS458 = 18.

Pour le deuxième passage, la valeur allélique de Naundorff pour DYS385.b =14, identique à celle d'Hugues ; la valeur DYS389.b est calculée ainsi (DYS389II moins DYS389I) ; pour ce deuxième passage la valeur allélique de Naundorff pour DYS389.b = 16 est identique à celle d'Hugues. A ce deuxième passage aussi, l'allèle de Naundorff pour Y-GATA-C4 = 23 est identique à celui d'Hugues.

C'est au troisième passage seulement que la plus longue valeur pour DYS390 =24, identique à celle d'Hugues, fut déterminée. Au troisième passage aussi, la valeur allélique de Naundorff pour DYS448 = 18. Cette valeur est légèrement différente (=19) de celle d'Hugues ; mais nous pouvons raisonnablement admettre que la valeur allélique réelle de Naundorff pour DYS448 est en fait 19, à cause du phénomène artéfactuel de « drop-in » (saut) d'allèle (une erreur expérimentale occasionnelle survenant lors du typage ADN-a).

Nous n'obtenons pas de résultat pour le STR Y-GATA-H4 de Naundorff ; ce marqueur n'a donc pas fait l'objet d'études ultérieures.

## DISCUSSION :

### Hugues de Bourbon est bien descendant de Naundorff par la voie masculine.

Comme le montre le tableau 1, le profil STR-Y de Naundorff déterminé ici (Tableau I) est donc identique (excepté pour DYS448) à celui d'Hugues de Bourbon pour presque 15 sites. Ces valeurs démontrent qu'Hugues de Bourbon, descendant vivant de Naundorff à la 4<sup>ème</sup> génération de la branche aînée (Figure 1) est relié à lui par une chaîne ininterrompue (de II2 : Charles-Edmond de Bourbon, III2 ; Charles-Louis-Mathieu de Bourbon ; IV1 : Charles-louis-Edmond de Bourbon) de marqueurs ADN-Y identiques.

### Datation de l'ancêtre commun entre Hugues de Bourbon et les autres Bourbons

Larmuseau et al.(2013) ont prélevé trois parents vivants ( Axel de Bourbon-Parme, Sixte-Henri de Bourbon-Parme et João-Henrique d'Orléans-Bragance) masculins de la Maison de Bourbon et a établi leur profil Y commun pour trente et un STRs. Le Tableau 1 donne la liste des quinze premiers ; comparés à celles d'Hugues de Bourbon, les valeurs alléliques d'Hugues diffèrent de celles communes aux trois Bourbons (Lucotte et Roy-Henry, 2014) pour seulement trois STRs : DYS390 = 24 (mutation d'une étape mutationnelle plus) *versus* 23, DYS391 = 12 (mutation de deux étapes mutationnelles plus)*versus* 10 et DYS456 = 15 (mutation deux étapes mutationnelles en moins) *versus* 17. Naundorff a des valeurs alléliques variables identiques à celles d'Hugues (Tableau 1).

Nous estimons la TMRCA (Walsh, 2001) entre Hugues de Bourbon et les autres Bourbons pour un test de 15 marqueurs : 12-1-2 (12 se correspondent exactement, 1 avec une différence d'un

saut mutational et 2 avec une différence de deux sauts mutationnels). Le temps moyen entre générations étant de 25 ans dans la série d'Henri IV à Louis XVI et de Karl Naundorff à Hugues de Bourbon, nous avons choisi cette valeur pour le calcul de l'estimation de cette datation.

Dans notre calcul du TMRCA entre Hugues de Bourbon et les trois Bourbons, nous avons adopté le principe particulier suivant (avec  $n$  = nombres de générations et  $\mu$  = taux de mutation) pour les sites où il n'y a pas de différence entre les deux,  $0,5P = (n^2\mu^2/2)+(1-n\mu)$ ; pour le site où il y a une seule différence (une étape de mutation) entre les deux,  $0,5P = (1-n\mu)(2n\mu)$ ; et pour les sites où il y a deux différences (deux étapes de mutation) entre les deux,  $0,5P = n^2\mu^2/2$ . Le tableau 2 présente le calcul pour les trois STRs variables DYS390, DYS391 et DYS456, avec un taux de mutation connu (Burgarella et Navascues, 2011)

Notre estimation globale avec 50% de probabilité est qu'Hugues de Bourbon et les trois Bourbons étudiés par Larmuseau *et al.* (2013) ont un ancêtre commun aux alentours de l'année 1300.

Cette date correspond approximativement à celle des premiers Bourbons dans l'arbre généalogique de la Maison de Bourbon. Jacques I de Bourbon (1319-1361), Jean I de Bourbon (1344-1393); les Bourbons sont devenus une famille importante en 1268, avec le mariage de Robert, comte de Clermont (le sixième fils du roi Louis IX de France) à Béatrice de Bourgogne, héritière de la Seigneurie de Bourbon. Leur Fils Louis (1280-1342) a été élevé Duc de Bourbon en 1327, et prit le nom de Louis I de Bourbon. La branche de Condé se sépara des Bourbons depuis Louis le Premier (1530-1569), le premier prince de Condé.

## Conclusion

Les résultats rapportés dans la présente étude concernant la comparaison de marqueurs génétiques du chromosome Y entre Karl Wilhelm Naundorff et Hugues de Bourbon établissent que K.W. Naundorff possède 14 valeurs alléliques identiques à celles d'Hugues, pour les 15 étudiées. Par conséquent, Hugues de Bourbon est bien le descendant à la 4<sup>ème</sup> génération par la voie masculine de la branche aînée à partir de Karl Wilhelm Naundorff.

## Liste des abréviations :

a-DNA : ADN ancien ; mtDNA : ADN Mitochondrial ;  $\mu$  : taux de mutation ;  $n$  : nombre de générations ;  $P$  : Probabilité ; PCR : Réaction en Chaîne par Polymérisation ; STR : Répétitions en Tandem Courts ; TMRCA : Date du Plus Récent Ancêtre Commun ; X : chromosome-X ; Y : Chromosome-Y.

## Remerciements

Nous remercions M. Frédéric Bouju (Institut Louis XVII) pour les informations concises concernant la famille Naundorff ; le Dr Jean-Manuel Ledru, pour son aide dans le calcul du TMRCA ; Mgr Charles de Bourbon, qui nous a communiqué les résultats, jusqu'alors non publiés, des STRs-Y de son frère et de lui-même. Cette étude fait partie des enquêtes

génétiques développées à l'Institut d'Anthropologie Moléculaire sur les familles royales en France.

## Références

Burgarella C, Navascues M (2011). Mutation rate estimates for 110 Y-chromosome STRs combining population and father-son pair data. *European Journal of human genetics*, 19, 70-75.

Larmuseau MHD, Delorme P, Germain P, Wanderheyden N, Gilissen A, Geystelen A, Cassiman JJ, Decorte R (2013). Genetic genealogy reveals true Y-haplogroup of House of Bourbon contradicting recent identification of the presumed remains of two French kings. *European Journal of human genetics*, 22, 681-687.

Lucotte G, Roy-Henry (2014). Comparison between the Y-chromosome STR profile of Hugues de Bourbon and other members of the House of Bourbon. *International Journal of Sciences*, 3(2): 92-98.

Lucotte G, Crépin C, Thomasset T, Paris M (2014). Mitochondrial DNA sequences of the famous Karl Wilhelm Naundorff (1785?-1845). *International Journal of Sciences*, 3(7): 28-32.

Walsh B (2001). Estimating the time of the Most Recent Common Ancestor for the Y chromosome or mitochondrial DNA for a pair of individuals. *Genetics*, 158: 897-912.

**Tableau 1. Valeurs alléliques STR-Y pour Karl Naundorff, Hugues de Bourbon et les trois Bourbons précédemment publiés par Larmuseau *et al.* (2013). Les valeurs des allèles variables entre Hugues de Bourbon et les trois Bourbons sont en italique.**

Nbrs	Y-STRs	Naundorff			Hugues de Bourbon	Les trois Bourbons <sub>2</sub>	V <sub>2</sub> , V <sub>3</sub>	Taux de mutation
		1	2	3 (s) <sub>1</sub>				
1	DYS19	14			14	14	15	
2	DYS385.a	11			11 <sub>3</sub>	11	14	
3	DYS385.b		14		14 <sub>3</sub>	14	15	
4	DYS389.I	13			13	13-14	13	
5	DYS389.b		16		16	16	17	
6	DYS390			24	24	23	24	4,7x10 <sup>-3</sup>
7	DYS391	12			12	10	10	2x10 <sup>-3</sup>
8	DYS392	13			13	13	12	
9	DYS393	13			13	13	15	
10	DYS438	12			12	12		
11	Y-GATA-A4	12			12	12		
12	DYS448			18	19	19		
13	DYS456	15			15	17		3,3x10 <sup>-3</sup>
14	DYS458	18			18	18		
15	Y-GATA-C4		23		23 <sub>3</sub>	23		

1. Trois essais successifs : 1,2 et 3 avec des degrés progressifs de sévérité.
2. Dans Larmuseau *et al.*, 2013
3. Dans Lucotte et Roy-Henri, 2014 : trois nouvelles valeurs ( pour DYS385.a et .b, et pour Y-GATA-C4) sont ajoutées ici.

**Tableau 2. Méthodes de calcul du TMRCA entre Hugues de Bourbon et les trois Bourbons (Tableau 1) pour les sites variables ; n= nombre de générations.**

Différences	STRs	Calculs
Différence d'une étape mutationnelle	DYS390	0,5P (1 étape diff.)=(1-n 4.7 x 10 <sup>-3</sup> )(2n 4.7 x10 <sup>-3</sup> )
différence de deux étapes mutationnelles	DYS391	0,5P (2 étapes diff.)=n <sup>2</sup> 2 x 10 <sup>-3</sup> /2
différence de deux étapes mutationnelles	DYS456	0,5P (2 étapes diff.)=n <sup>2</sup> 3.3 x 10 <sup>-3</sup> /2

INSTITUT LOUIS XVII