

géniques sécrétaient du facteur IX dans leur lait, mais en quantités infimes. Pourquoi cet échec? Nous avons analysé ces travaux et essayé une autre stratégie.

Un cochon magique

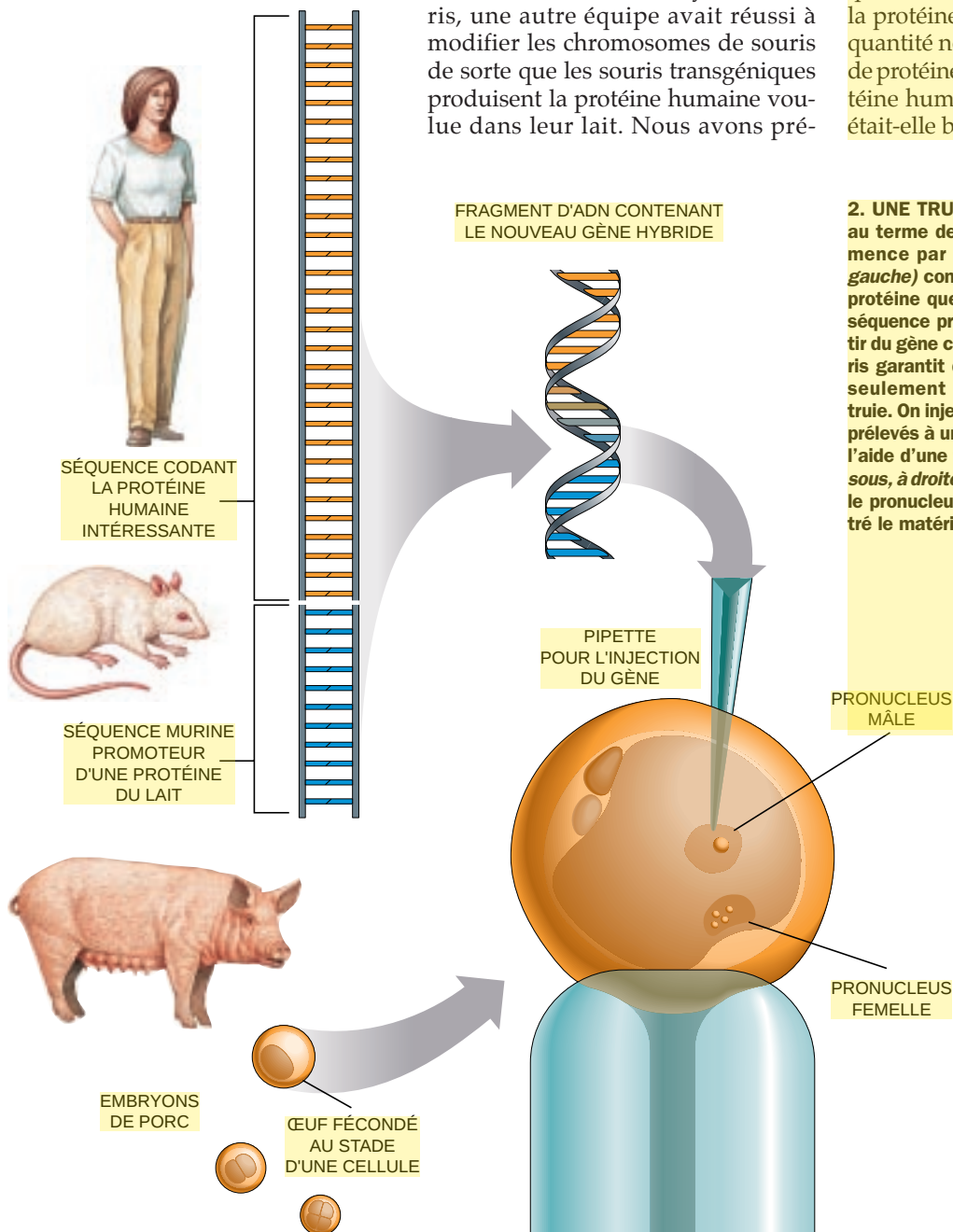
Au lieu de travailler sur des brebis, des chèvres ou des vaches, comme les autres équipes, nous avons choisi la truie, pour produire des protéines humaines. Les truies présentent plusieurs avantages : la période de gestation est courte (quatre mois) ; les femelles ont leur première portée à un an environ, et les portées sont com-

posées d'une dizaine de porcelets. Au total, la production de cochons transgéniques est plus rapide que pour d'autres espèces domestiques, et l'on récupère beaucoup de lait : en période de lactation, une truie produit environ 300 litres de lait par an. Restait la principale question : les truies transgéniques produiraient-elles suffisamment de protéines humaines dans leur lait?

Pour mettre les chances de notre côté, nous avons décidé d'utiliser un segment d'ADN composé d'un gène humain et du promoteur d'une protéine du lait de souris, la protéine acide du lactosérum. En injectant cette combinaison d'ADN à des embryons de souris, une autre équipe avait réussi à modifier les chromosomes de souris de sorte que les souris transgéniques produisent la protéine humaine voulue dans leur lait. Nous avons pré-

paré un fragment d'ADN contenant le gène humain de la protéine voulue, ici la protéine C, et le promoteur de la protéine acide du lactosérum de souris. Nous avons ensuite injecté cet ADN à des embryons de porc.

Nous avons implanté les cellules modifiées chez une truie et, après quatre mois d'inquiétude, nous avons constaté qu'un des porcelets femelles portait l'ADN étranger dans toutes ses cellules. C'était Genie! Nous avons dû patienter encore un an, le temps qu'elle puisse procréer, pour savoir si elle produirait la protéine humaine dans son lait. Effectivement, le lait de Genie contenait la protéine C. Sans être aussi abondante que certaines protéines porcines du lait, la protéine humaine était présente en quantité notable : environ un gramme de protéine C par litre de lait. Cette protéine humaine fabriquée par un porc était-elle biologiquement active?



2. UNE TRUIE TRANSGÉNIQUE est obtenue au terme de plusieurs opérations : on commence par préparer un segment d'ADN (à gauche) contenant le gène humain codant la protéine que l'on cherche à produire et une séquence promoteur. Celle-ci, obtenue à partir du gène codant une protéine du lait de souris garantit que le gène humain s'exprimera seulement dans le tissu mammaire de la truie. On injecte alors cet ADN à des embryons prélevés à une truie (ci-dessous, à gauche), à l'aide d'une très fine pipette de verre (ci-dessous, à droite). L'ADN modifié est introduit dans le pronucleus mâle, une zone où est concentré le matériel génétique apporté par le spermatozoïde qui a fécondé l'œuf. Un des chromosomes du porc incorpore l'ADN étranger : les fragments isolés sont peut-être considérés comme des fragments de son propre matériel génétique qu'il faudrait réparer. Enfin, on réimplante les embryons modifiés.



R. Ost (animaux) ; J. Schneidman Design (dessin) ; S. Butler (photo)

La question était grave, car les détails de la synthèse des protéines dans les cellules sont encore mystérieux. Si l'on sait assez bien comment fonctionne la machinerie cellulaire qui lit le code génétique et le traduit en des séquences d'acides aminés (les protéines sont des enchaînements d'acides aminés), on connaît mal les modifications subtiles que les cellules font subir aux protéines, une fois les acides aminés assemblés. Ces modifications «post-traductionnelles» donnent aux protéines la forme et la composition chimique finales qui assureront leur fonctionnement correct : au cours d'opérations cellulaires complexes, certaines régions de la protéine sont éliminées, et des groupes chimiques sont ajoutés. Les cellules du tissu mammaire de Genie allaient-elles fabriquer une version biologiquement active de la protéine sanguine humaine ?

Avant d'étudier la question, nous devions extraire du lait la protéine humaine. Nous avons d'abord éliminé les matières grasses du lait par centrifugation, puis nous avons purifié le lactosérum en utilisant un procédé qui devait séparer la fraction biologiquement active de la protéine humaine du reste : un tiers des molécules de protéine C étaient actives ! C'était la première fois que l'on produisait et que l'on isolait autant de protéine C fonctionnelle à partir d'un animal transgénique, et le rendement était même supérieur à celui des bioréacteurs. Genie était la preuve vivante qu'une protéine humaine complexe pouvait être produite par des animaux transgéniques.

Les modèles de demain

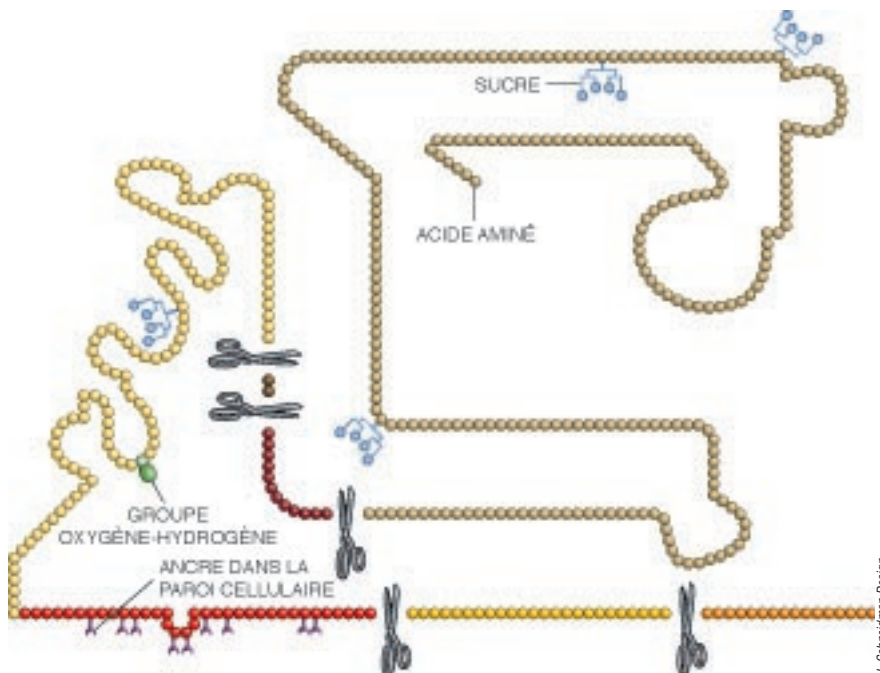
Pendant plusieurs années, nous avons étudié Genie et sa nombreuse descendance ; puis nous nous sommes efforcés d'augmenter la quantité de protéine humaine active dans le lait. Si un tiers seulement de la protéine C excrétée était active, c'était que le tissu mammaire n'effectuait pas correctement la mise en forme de la protéine.

Nous avons alors découvert que la plupart des molécules de protéine C restaient figées dans une configuration immature, et par conséquent inactive, car les cellules ne produisaient pas suffisamment d'une enzyme de maturation indispensable, la furine.

Augmenterions-nous le rendement en introduisant dans le génome un gène qui favoriserait la synthèse de cette enzyme ?

Pour le savoir, nous avons temporairement abandonné le porc pour la souris, un des mammifères transgéniques les plus étudiés, qui se repro-

duit très rapidement. En 1995, nous avons obtenu une lignée de souris transgéniques qui portaient deux gènes humains : celui de la protéine C et celui de la furine. Pour que ces deux «transgènes» s'expriment dans la glande mammaire, nous les avons associés au promoteur d'ADN déjà uti-



3. LA PROTÉINE C HUMAINE est synthétisée en plusieurs étapes. La machinerie cellulaire commence par assembler 461 acides aminés conformément aux informations stockées dans le gène de la protéine C (c'est l'étape de traduction). Après cet assemblage, la protéine se replie pour adopter une configuration caractéristique, qui délimite plusieurs domaines (les différentes régions colorées). Puis la protéine subit plusieurs modifications dites post-traductionnelles : certaines régions sont éliminées, et des groupes chimiques sont ajoutés à des endroits précis de la chaîne d'acides aminés.

Qu'en pense Genie ?

Quelle est la vie des animaux transgéniques ? Les «transgènes» injectés aux embryons finissent par faire partie de chacune des cellules des animaux adultes. Que se passerait-il si un transgène produisait une protéine étrangère, nocive pour les tissus environnants ?

Pour parer à cette éventualité, nous fabriquons des transgènes qui ne s'expriment que dans la glande mammaire, c'est-à-dire dans des tissus qui, naturellement, produisent des protéines et les évacuent. Nous pensons avoir atteint cet objectif dans nos porcs transgéniques : grâce à un promoteur d'un gène du lait, c'est-à-dire une séquence génétique présente chez tous les mammifères qui contrôle l'expression du (ou des) gène(s) situé(s) en aval, nous commandons le lieu de production des protéines thérapeutiques.

Néanmoins, ce contrôle n'est pas parfait, puisque nous avons constaté que les

gènes introduits dans les porcs produisent de petites quantités des protéines étrangères dans les glandes salivaires, dont la composition ressemble beaucoup à celle du tissu mammaire. Nous avons prévu cette production parasite, mais nous sommes convaincus qu'elle est sans conséquence sur le bien-être des porcs.

De toute façon, la fabrication d'animaux transgéniques ne s'imposera que si les animaux ne souffrent pas des gènes humains qu'on leur a introduits et s'ils sont en parfaite santé. Dès lors, les animaux transgéniques qui produisent des protéines humaines présentent l'avantage essentiel de limiter le risque de transmission de maladies aux patients traités ; pour produire des médicaments de qualité et en quantité suffisante, et pour éviter de transmettre quelque agent pathogène inconnu, on doit sélectionner les animaux les plus sains.