

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

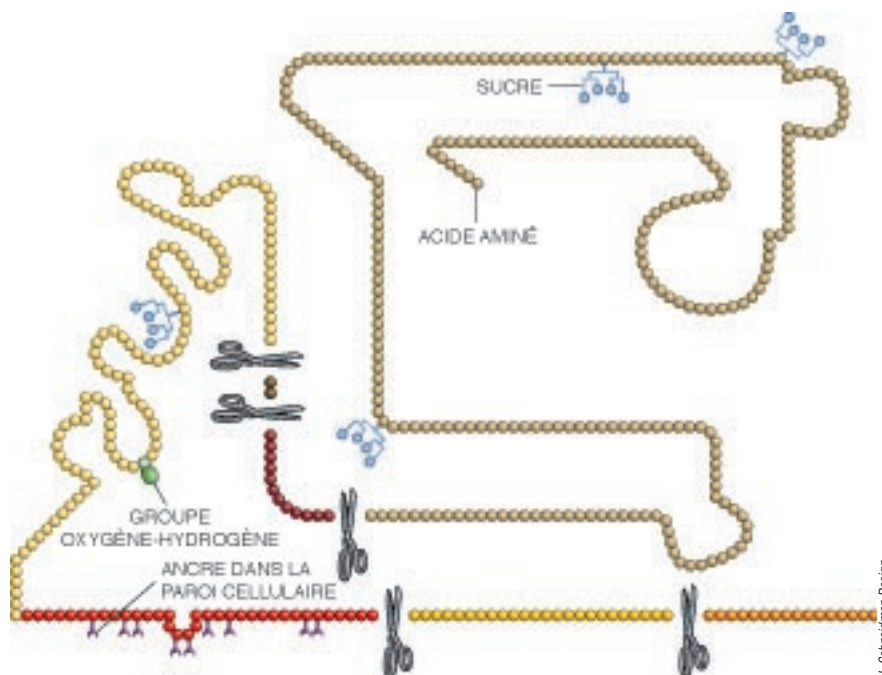
Pendant plusieurs années, nous avons étudié Genie et sa nombreuse descendance ; puis nous nous sommes efforcés d'augmenter la quantité de protéine humaine active dans le lait. Si un tiers seulement de la protéine C excrétée était active, c'était que le tissu mammaire n'effectuait pas correctement la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

Une nouvelle branche de l'industrie pharmaceutique

Jusqu'à l'avènement du génie génétique, une quantité notable de substances d'intérêt pharmaceutique, les protéines, n'étaient pas utilisables, car elles n'étaient pas disponibles. Les protéines ont généralement une structure trop complexe pour être synthétisées par des réactions chimiques. Les seules protéines exploitables provenaient d'extraits d'organes ou de sang d'animaux ou d'hommes. Le génie génétique permet d'isoler des gènes, de les modifier si nécessaire, et de les utiliser pour produire la protéine correspondante. Pour ce faire il faut trouver le moyen de décoder le gène, opération difficile et que seules peuvent réaliser des cellules qui ont l'équipement enzymatique nécessaire. Les bactéries et les levures déjà utilisées pour divers usages sont les cellules les plus aisées à manipuler industriellement. Ces organismes monocellulaires sont aptes à assembler les acides aminés sous la direction du gène étranger qu'elles ont reçu, puisque le code génétique est le même pour tous les organismes vivants. En revanche, les multiples modifications que subissent bon nombre des protéines humaines après leur synthèse ne sont pas assurées par les bactéries ou par les levures, dépourvues des enzymes requises. Les gènes doivent être décodés par des cellules animales, que l'on peut cultiver dans des fermenteurs, tout comme les bactéries et les levures. Ces méthodes sont d'une efficacité limitée.

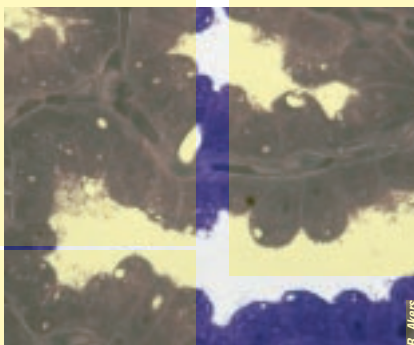
Au contraire, les animaux transgéniques sont des fermenteurs vivants très efficaces et le lait est le fluide biologique à peu près idéal pour recueillir les protéines recombinantes ayant un intérêt pharmaceutique. Dix ans environ après les premiers essais, cette technique atteint les premiers stades de la maturité et le passage à l'échelle industrielle a commencé. Trois protéines préparées à partir du lait sont en cours d'essais cliniques. Plus de dix autres protéines attendent leur tour. Il semble raisonnable d'imaginer que 100, voire 200, protéines seront ainsi produites dans les décennies à venir. Ces protéines seront des facteurs de coagulation, d'autres facteurs sanguins, des hormones, des facteurs de croissance, des antigènes utilisables pour les vaccinations par voie orale ou par injection, ou encore des anticorps.

Aussi prometteurs que soient certains résultats, la méthode rencontre encore de cuisants échecs. La quantité de protéines recombinantes sécrétées dans le lait des animaux transgéniques est parfois très faible sans que l'on sache pourquoi. Pour que les gènes intéressants ne s'expriment que dans la glande mammaire, divers fragments d'ADN doivent se recombiner, mais les gènes obtenus sont parfois peu actifs. De plus, les protéines recombinantes sécrétées dans le lait ne sont pas toutes

sous une forme biologiquement active, car les cellules mammaires ne traitent pas toujours correctement les chaînes qui viennent d'être synthétisées. Enfin, si la synthèse de la protéine recombinante a lieu essentiellement dans la glande mammaire, elle n'est pas toujours strictement restreinte à cet organe. La protéine humaine circule alors dans le sang de l'animal. Or, certaines protéines recombinantes destinées à l'espèce humaine sont parfaitement actives chez l'animal transgénique, et sa santé est alors altérée. Ces imperfections ne seront pas toutes corrigées et constituent les limites à l'utilisation des animaux transgéniques comme fermenteurs vivants.

L'avenir de la méthode paraît assuré même si des systèmes concurrents sont en cours d'élaboration. Ainsi, les bactéries et les levures pourront être génétiquement modifiées et rendues plus aptes à assurer la finition des protéines recombinantes. Les plantes transgéniques, tel le tabac, peuvent produire un kilogramme de protéine comme l'albumine humaine par hectare. Le blanc des œufs de poule sera peut-être un concurrent du lait lorsque l'on

maîtrisera mieux la transgénèse dans cette espèce. Toutefois, les cellules végétales n'assurent pas correctement la finition et notamment la glycosylation des protéines animales. On peut prévoir que, dans les décennies à venir, les différents systèmes de production des protéines recombinantes cohabiteront, chacun assurant ce qu'il sait faire le mieux, au moindre coût.



LE TISSU MAMMAIRE d'une truie transgénique contient un réseau dense de cellules (en violet) qui produisent une protéine humaine thérapeutique. La structure de la glande mammaire permet à la protéine humaine ainsi produite d'être libérée dans les canaux de sécrétion (en blanc) en même temps que les autres composants du lait de l'animal.

d'intérêt pharmaceutique. Nous utilisons le promoteur du gène de la protéine acide du lactosérum de lapin. Ce promoteur commande la sécrétion d'hormones de croissance et d'un inhibiteur enzymatique, l'antitrypsine $\alpha 1$, à des concentrations comprises entre 1 et 20 milligrammes par millilitre de lait. Avec une entreprise suédoise, nous avons obtenu des lapins qui expriment le gène de la E-C-superoxyde dismutase humaine, qui a des effets antioxydants. Des lapins produisant l'érythropoïétine humaine (une des hormones qui stimule la croissance des globules rouges) ont également été obtenus, mais la santé des animaux était altérée par la présence de l'hormone. De plus gros animaux, des chèvres, des moutons ou des vaches pourraient produire de la même façon des protéines humaines thérapeutiques. Pour le moment, aucun industriel ne s'est montré intéressé pour exploiter ce savoir-faire.

Louis-Marie HOUEBINE
Laboratoire de biologie cellulaire et moléculaire – INRA