

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.

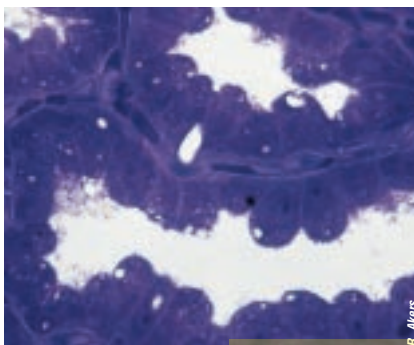
Au contraire, les animaux transgéniques sont des fermenteurs vivants très efficaces et le lait est le fluide biologique à peu près idéal pour recueillir les protéines recombinantes ayant un intérêt pharmaceutique. Dix ans environ après les premiers essais, cette technique atteint les premiers stades 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 recombinaisonner, 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

lisé chez Genie. Après plusieurs mois de travail, nous avons obtenu des souris capables de produire la forme mature de la protéine C dans leur lait. Nous avons alors commencé les travaux qui nous donneront un porc doté des gènes humains de la protéine C et de la furine. Nous espérons avoir bientôt une truie qui produira trois fois plus de protéine C active que Genie.

Perspectives imaginaires

Il y a quelques années seulement, l'idée de fabriquer de grandes quantités de protéines humaines à un coût raisonnable aurait paru fantaisiste : depuis plus de 20 ans, les biologistes moléculaires et les biochimistes s'acharnaient à résoudre les difficultés que pose la production de ces protéines dans des bioréacteurs, et la fabrication de substances biologiques à usage thérapeutique dans de vastes cuves en acier inoxydable contenant des cellules génétiquement modifiées était restée très difficile.

La construction de ces bioréacteurs est très coûteuse, et leur rendement dépend beaucoup de la température et de la composition du milieu où poussent les cellules. Les animaux transgéniques, eux, sont des bioréacteurs que l'on fabriquera par des croisements de parents transgéniques et que l'on élèvera comme n'importe quel animal de ferme : en les protégeant des maladies et en leur donnant à manger, on obtiendra les protéines voulues à des concentrations bien supérieures à celles que l'on obtient dans les bioréacteurs.

Bien que l'on ne puisse exclure le risque que des agents pathogènes ne

se transmettent de l'animal à l'homme, des méthodes rigoureuses permettent d'obtenir des animaux indemnes des maladies répertoriées.

Les protéines humaines ainsi produites devront, comme n'importe quel nouveau médicament, être testées. Les premiers essais cliniques ont commencé, il y a quelques mois, pour une protéine anticoagulante, l'antithrombine III, fabriquée à partir de chèvres transgéniques de la Société Genzyme Transgenics.

Les cellules humaines et les cellules animales n'opèrent pas tout à fait les mêmes modifications post-traductionnelles, ce qui modifie peut-être le fonctionnement et la stabilité des protéines : certaines protéines sanguines sont rapidement dégradées par le foie, de sorte que leur concentration efficace diminue rapidement. On espère que les protéines fabriquées par l'animal, qui n'auront pas subi les mêmes modifications post-traductionnelles, seront dégradées moins rapidement, ce qui augmentera d'autant leur durée d'action.

Si les animaux transgéniques se révèlent finalement un succès du génie génétique, on ne devra pas oublier que ce succès est dû au génie de la nature. La glande mammaire contient de nombreuses cellules capables de produire des protéines thérapeutiques, et elle est bien plus efficace que n'importe quel système de culture cellulaire. En dépit de tous les efforts consacrés au perfectionnement des bioréacteurs industriels, toute une génération de biochimistes n'a pu atteindre, avec cette méthode de fabrication des protéines, les potentialités qu'offre la nature.

William VELANDER est professeur de génie biochimique à l'Institut polytechnique de Virginie. Henryk LUBON travaille au Laboratoire de la Croix-Rouge américaine. William DROHAN dirige le Département des dérivés sanguins, dans ce laboratoire.

Charles T. ESMON, *The Regulation of Natural Anticoagulant Pathways*, in *Science*, vol. 235, pp. 1348-1352, 13 mars 1987.

Rudolf JAENISCH, *Transgenic Animals*, in *Science*, vol. 240, pp. 1468-1474, 10 juin 1988.

Rekha PALEYANDA, Janet YOUNG, William VELANDER et William DRO-

HAN, *The Expression of Therapeutic Proteins in Transgenic Animals*, in *Recombinant Technology in Hemostasis and Thrombosis*, sous la direction de L.W. Hoyer et W.N. Drohan, Plenum Press, 1991.

Tulin MORCOL, Robert M. AKERS, John L. JOHNSON, Barry L. WILLIAMS, Francis C. GWAZDAUSKAS, James W. KNIGHT, Henryk LUBON, Rekha K. PALEYANDA, William N. DROHAN et William H. VELANDER, *The Porcine Mammary Gland as a Bioreactor for Complex Proteins*, in *Recombinant DNA Technology*, vol. 2 : numéro spécial de *Annals of the New York Academy of Science*, vol. 721, pp. 218-233, 2 mai 1994.