

sance, et une protéine. Ces chimères moléculaires devraient avoir une action anticancéreuse ciblée : un anticorps qui reconnaîtrait des cellules tumorales s'y ancrerait et permettrait à la substance active accolée (par exemple une toxine bactérienne) d'agir sur ces cellules cibles.

La fusion génétique autorise aussi la synthèse d'anticorps « bispécifiques » : si leurs deux bras reconnaissent deux cibles différentes, les molécules pourraient rapprocher d'une cellule tueuse du système immunitaire une cellule tumorale et provoquer la destruction de cette dernière.

Toutefois, on ne connaît encore aucune molécule capable de reconnaître spécifiquement des cellules tumorales, de sorte que ces médicaments testés n'ont pas une action aussi ciblée ni sûre qu'on le souhaiterait. En outre, les toxines bactériennes utilisées déclenchent généralement des réactions de défense, qui finissent par rendre les molécules chimères inefficaces.

Afin d'adapter une protéine aux exigences thérapeutiques, on peut aussi éliminer certaines parties du gène qui la code. Cette stratégie a été utilisée par la Société *Boehringer Mannheim* pour la production du tPA recombiné tronqué, utilisé contre l'infarctus du myocarde. On sait que les infarctus surviennent quand un caillot sanguin obstrue une artère coronaire : le caillot, constitué d'un réseau de fibrine et de plaquettes sanguines, doit être éliminé aussi vite que possible, car un tissu non irrigué se nécrose.

Pour dégager les vaisseaux, on utilisait des enzymes telles que la streptokinase bactérienne et, depuis une dizaine d'années, la protéine humaine tPA (de l'anglais *tissue Plasminogen Activator*, soit « activateur tissulaire du plasminogène ») ; les deux substances transforment le plasminogène en plasmine, une enzyme naturelle qui dégrade les fibres de fibrine.

Comme le foie élimine rapidement le tPA naturel du sang, on doit en administrer des doses élevées, afin qu'il ait le temps d'agir. Toutefois, une concentration élevée risque d'entraîner des hémorragies internes, des lésions cérébrales avec paralysies, voire la mort. Le tPA entier a également l'inconvénient de se fixer à la surface du caillot de fibrine, ce qui l'empêche de pénétrer dans le caillot pour le dissoudre.

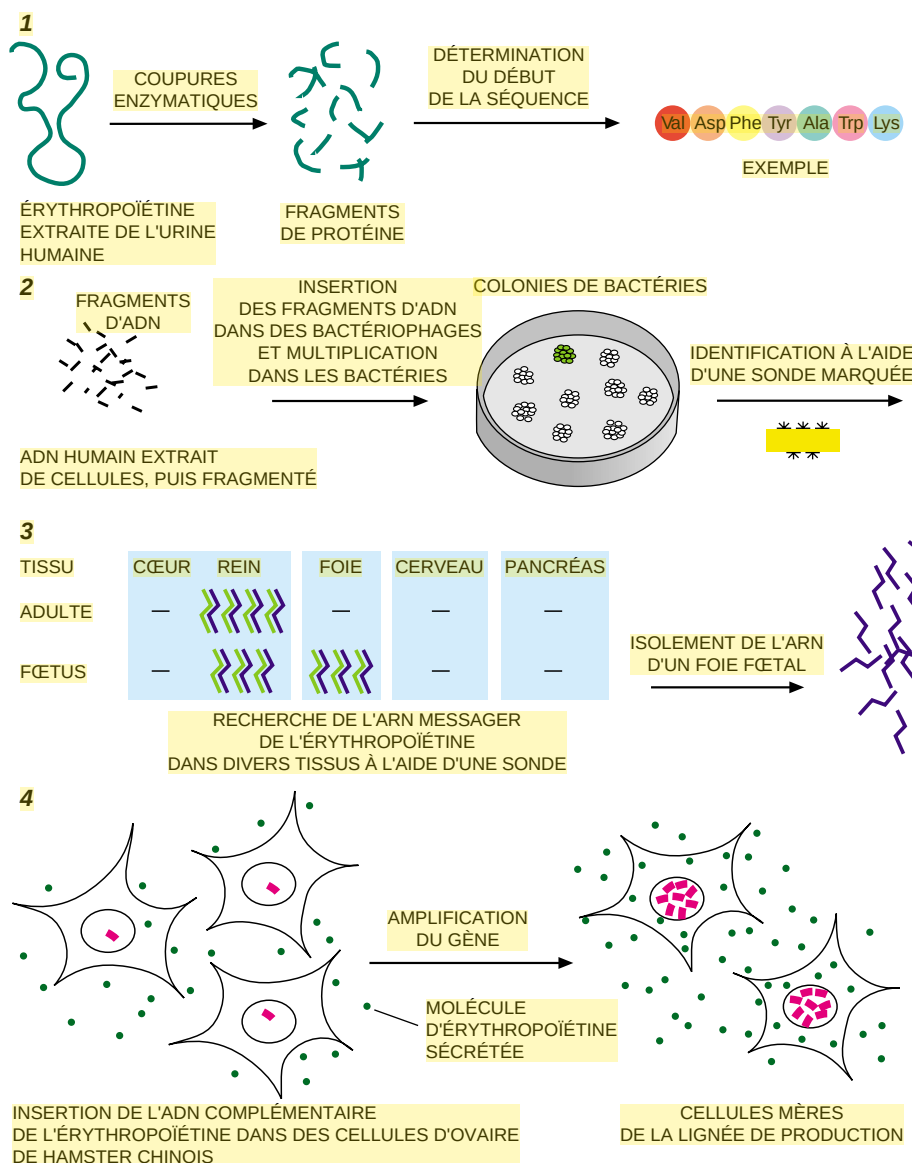
Or, le tPA est constitué de plusieurs domaines, chacun assurant une fonc-

tion donnée. Par génie génétique, on sait sélectionner les domaines en éliminant du gène les séquences qui codent les propriétés gênantes. Afin d'améliorer la protéine thérapeutique, on ne fait produire par des bactéries que deux domaines génétiques, qui codent les deux derniers des cinq domaines que compte normalement la molécule. Comme chaque

domaine adopte sa conformation spatiale quasi indépendamment des autres, la molécule à deux domaines (le tPA recombiné tronqué) se replie normalement. Sa demi-vie dans l'organisme est trois fois supérieure à celle de la molécule naturelle, et sa fixation à la surface des caillots est moins forte, de sorte qu'elle y pénètre mieux et les dissout

Préparation d'une lignée cellulaire

L'érythropoïétine est une hormone que l'on fait produire par des cellules de mammifères transformées par génie génétique, car ces dernières synthétisent la protéine dans sa conformation biologiquement active et l'excrètent dans le milieu de culture. Quand on ignorait la séquence du gène qui code cette hormone, on a d'abord isolé la protéine de l'urine humaine, déterminé sa séquence en acides aminés et déduit la séquence probable de l'ADN correspondant (étape 1). On a ensuite synthétisé un court fragment de cet ADN marqué pour « pêcher » dans une banque de gènes un fragment d'ADN humain naturel contenant une séquence codant l'érythropoïétine (étape 2). La banque de gènes est consti-



plus rapidement. Comme le tPA recombiné tronqué reste plus longtemps dans le sang, il peut être injecté, et ne nécessite pas une perfusion continue, ce qui est le cas du tPA entier.

À l'heure où la plupart des pays cherchent à maîtriser leurs dépenses de santé, les nombreux succès thérapeutiques obtenus avec des protéines

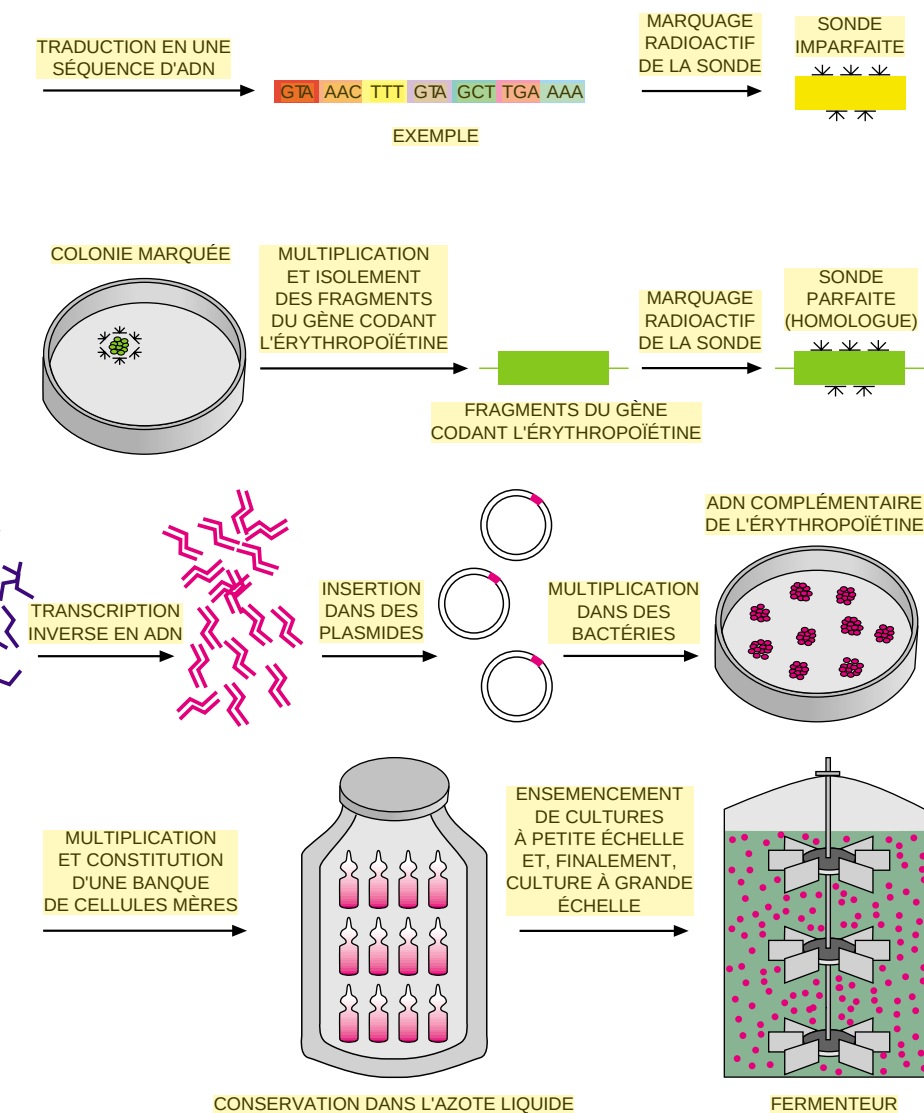
recombinées justifient leur prix de revient élevé par rapport à celui des médicaments classiques : la culture industrielle de cellules de mammifères est onéreuse, et les protéines recombinées sont souvent administrées à des doses élevées, ce qui augmente d'autant le prix du traitement. Toutefois, les médicaments coûtent de plus en

plus cher, en raison de l'allongement de la durée de leur mise au point, qui, en 30 ans environ, a quintuplé : généralement, plus de dix années s'écoulent avant la mise sur le marché d'un médicament.

De surcroît, une nouvelle molécule chimique n'a guère qu'une chance sur dix de passer avec succès toutes les étapes de sélection qui vont des premiers essais cliniques à la mise sur le marché. Au contraire, la durée moyenne de mise au point des médicaments recombinés autorisés jusqu'à présent a été plus courte, et près d'une molécule sur deux a été commercialisée : les protéines recombinées sont moins toxiques que d'autres molécules, ce qui explique peut-être leur succès. Une fois que l'on connaît le mécanisme d'action d'une protéine, sa production est moins aléatoire que celle d'une substance de synthèse.

pour la production de l'érythropoïétine

tuée de fragments de gènes humains insérés dans des virus infectant les bactéries (des bactériophages). Le fragment codant l'érythropoïétine a ensuite servi de sonde pour repérer les cellules de l'organisme qui produisent l'ARN messager de l'érythropoïétine en grande quantité (étape 3). Ces ARN, qui contiennent le programme complet des informations nécessaires à la synthèse de l'hormone, ont été retranscrits en ADN à l'aide d'une enzyme, clonés dans des bactéries et transférés dans des cellules d'ovaires de hamster. Le gène a été amplifié (étape 4). À partir de la banque des cellules mères, on réalise d'abord des cultures de taille limitée, puis on les utilise à grande échelle dans des fermenteurs.



Du laboratoire à la pharmacie

Les protéines thérapeutiques du futur seront produites, non pas dans des fermenteurs, mais directement dans l'organisme du patient. Ces médicaments ne seront plus constitués du principe actif lui-même, mais du gène qui en assure la synthèse. À l'aide de vecteurs, l'ADN pénétrera dans les cellules de l'organisme, qui produiront alors la protéine requise. Aujourd'hui, deux vecteurs sont à l'étude : des virus modifiés, notamment des adénovirus et des rétrovirus, et diverses enveloppes lipidiques (des molécules de graisse), nommées liposomes.

Pour la première fois, on pourra lutter contre les maladies héréditaires, c'est-à-dire traiter leur cause et non pas seulement les symptômes. On traitera par la thérapie génique les cellules somatiques (toutes les cellules, à l'exception des cellules de la reproduction), de sorte qu'elles pallieront elles-mêmes leur déficit. De nombreux obstacles demeurent, mais cette voie permettra d'élargir l'éventail des traitements par des protéines recombinées. Ainsi, on compensera par un apport externe l'absence ou l'inefficacité de substances qui, à l'instar des hormones, des facteurs de croissance ou d'autres messagers, sont présentes dans le sang ou dans les tissus. En revanche, s'il manque une protéine au sein des cellules, un apport externe ne compensera pas le déficit.