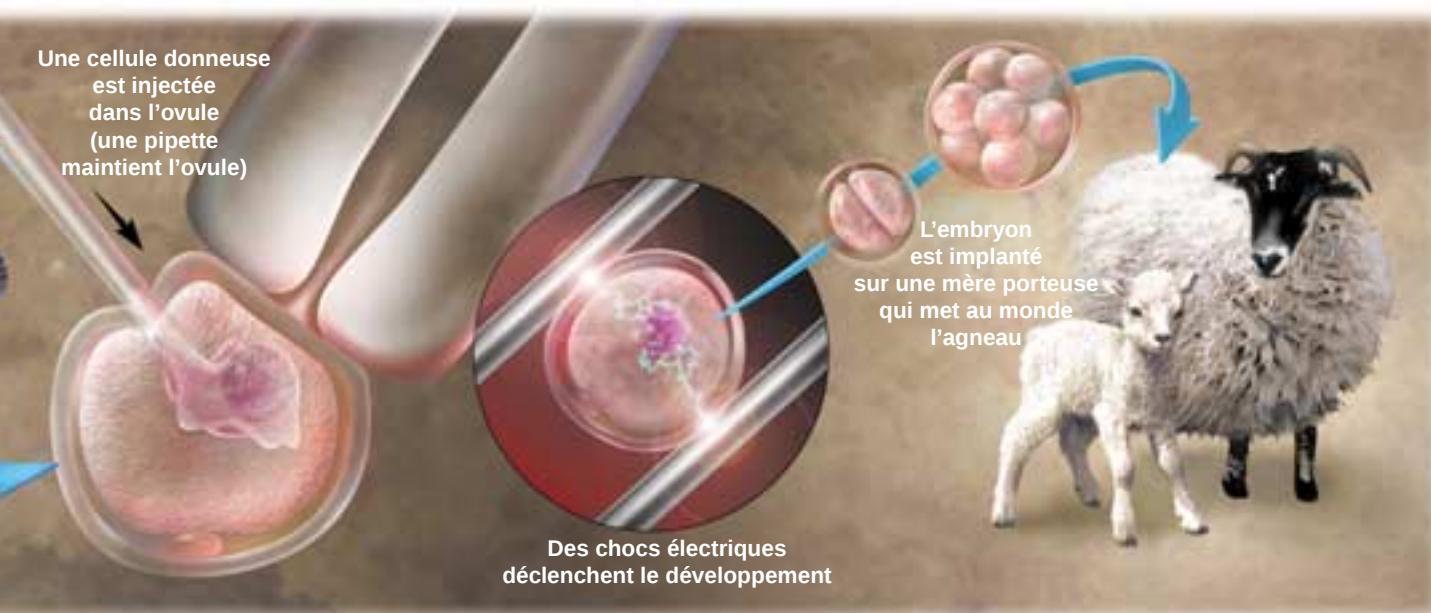




Au cours d'expériences de transfert nucléaire réalisées sur des grenouilles il y a presque 30 ans, à Cambridge, John Gurdon a observé que le nombre des embryons qui survivent et qui deviennent des têtards diminue à mesure que les cellules donneuses sont prélevées à des stades de différenciation plus avancés. Nous avons obtenu les mêmes résultats avec des mammifères. D'après toutes les études de clonage décrites, une proportion notable d'embryons et de fœtus meurent : un à deux pour cent seulement d'embryons franchissent le cap de la naissance. De surcroît, la mortalité postnatale est importante.

On ignore la cause de cette surmortalité, mais elle indique que l'on ne maîtrise pas parfaitement la reprogrammation génétique qui s'effectue avant la naissance de jeunes animaux viables. Il suffit qu'un seul gène s'exprime de façon inappropriée pour que l'embryon cesse de se développer, faute d'une protéine vitale. Or une telle reprogrammation met probablement en jeu des milliers de gènes selon un scénario partiellement aléatoire. Diverses améliorations techniques pourraient réduire la mortalité.

La méthode de production de jeunes animaux à partir de cellules en culture

facilitera la réalisation d'animaux génétiquement modifiés, ou transgéniques, particulièrement importants pour la recherche et pour la préparation de protéines humaines thérapeutiques. En effet, la technique classique d'obtention d'animaux transgéniques est excessivement lente et peu efficace. On injecte un fragment génétique – une

séquence d'ADN comportant un gène intéressant – dans un grand nombre d'ovules fécondés. Quelques chromosomes incorporent ce fragment d'ADN, qui s'exprime alors dans cette cellule, dans les cellules filles, et chez l'animal après la naissance. Ces animaux transmettent le fragment d'ADN à leur descendance.

Au contraire, par un traitement chimique simple, on peut faire pénétrer un fragment d'ADN dans des cellules. Quand ces cellules sont ensuite utilisées comme donneuses lors d'un transfert nucléaire, toute leur descendance clonée porte l'ADN étranger. L'Institut Roslin et les Laboratoires PPL Therapeutics ont ainsi produit des animaux transgéniques plus efficacement que par la méthode de micro-injection.

Nous avons incorporé au génome d'un mouton le gène du facteur IX humain, une protéine sanguine de la coagulation utilisée dans le traitement de l'hémophilie B. Au cours de cette expérience, le gène du facteur IX était associé à un gène de résistance aux antibiotiques : ainsi, en ajoutant aux cellules en culture une dose toxique d'antibiotique (de la néomycine), on tue toutes les cellules qui n'ont pas incorporé l'ADN étranger, et l'on ne



2. DOLLY (à droite) fut une célébrité mondiale en 1997 : c'était le premier mammifère cloné à partir de cellules prélevées sur un animal adulte. Aujourd'hui adulte, Dolly a donné naissance à Bonnie (à gauche), un agneau en pleine santé issu d'un accouplement et d'une gestation classiques.

Comment préparer des cellules pour fabriquer des clones transgéniques

Des séquences d'ADN issues d'une brebis et d'un être humain sont combinées, puis injectées dans des cellules de mouton qui sont utilisées comme donneuses de noyaux.

Séquence d'ADN d'un gène codant une protéine humaine du sang

ADN de cellule mammaire de brebis

Kevin Kasnot

conserve que les cellules qui ont incorporé le gène de résistance... ainsi que le gène du facteur IX. La proportion d'embryons qui se sont développés correctement après le transfert nucléaire a été voisine de celle obtenue avec la technique classique de micro-injection.

La première brebis transgénique produite de cette façon, Polly, naquit pendant l'été 1997. Polly et d'autres clones transgéniques sécrètent le facteur IX humain dans leur lait. Quand les techniques de prélèvement des ovules auront été améliorées, on pourra modifier génétiquement n'importe quel mammifère et cloner des animaux qui auront tous les mêmes gènes supplémentaires.

Récemment encore, la seule façon de s'assurer qu'un gène ajouté au génome d'un mammifère entraînait bien la production de la protéine qu'il codait dans le lait était de faire l'expérience sur des souris femelles dont on analysait le lait. On pourrait remplacer cette procédure par des expériences avec des cellules de glande mammaire, utilisées comme cellules donneuses : on évaluerait directement si des cellules mammaires cultivées produisent la protéine intéressante, ce qui accélérerait la détermination des cellules ayant incorporé les fragments d'ADN intéressants et capables de synthétiser la protéine thérapeutique.

Le clonage de mammifères a bien d'autres applications possibles. Notamment, on étudie la production d'organes d'animaux génétiquement modifiés qui pourraient être transplantés sur l'homme. Chaque année, des milliers de personnes meurent en attente d'une greffe de cœur, de foie ou de rein. Toutefois, les organes de porc

«normal» sont rapidement détruits par les réactions immunitaires quand ils sont greffés à un malade : des protéines de surface des cellules de porc sont reconnues par le système immunitaire, parce qu'elles sont modifiées par une enzyme, l'alpha-galactosyl transférase. Ainsi, un organe d'un porc que l'on aurait génétiquement modifié pour qu'il ne synthétise pas cette enzyme serait mieux toléré (à condition, toutefois, d'administrer au greffé des médicaments qui suppriment les réactions immunitaires résiduelles, moins intenses). En réalité, les cellules de porc portent, en surface, plusieurs antigènes spécifiques (de l'ordre de quelques dizaines). Les mécanismes de rejet des xenogreffes sont multiples, et l'on devra agir sur plusieurs gènes du porc pour assurer une tolérance satisfaisante du système immunitaire du receveur humain.

Les applications médicales du clonage

Par le clonage, on espère aussi produire rapidement des animaux qui auront des anomalies génétiques identiques à celles qui engendrent certaines maladies humaines, telle la mucoviscidose. Bien que l'on ait obtenu quelques informations sur la maladie en étudiant des souris, les gènes de la mucoviscidose diffèrent notablement de la souris à l'homme. Les moutons seraient plus intéressants, car leurs poumons ressemblent aux poumons humains. En outre, comme les moutons vivent beaucoup plus longtemps que les souris, on pourrait mieux évaluer les traitements à long terme.

La création d'animaux que l'on fait naître avec des maladies soulève des questions éthiques, mais peut-on refuser ces recherches qui visent à guérir des maladies très graves? Ainsi, à l'aide de tels animaux modifiés génétiquement, on étudierait la maladie de Parkinson, le diabète ou la dystrophie musculaire. Aujourd'hui, aucune de ces maladies n'a de traitement parfaitement efficace. Dans les trois cas, un mécanisme pathologique détruit des cellules vitales, qui sont incapables de se réparer ou de se renouveler. On les remplace en prélevant des cellules au malade et en les faisant se multiplier en culture, en injectant des cellules de donneurs humains, voire en greffant des cellules prélevées sur un animal.

On devra prendre garde que les cellules transférées ne transmettent aucune nouvelle maladie et qu'elles correspondent bien aux besoins physiologiques du receveur ; simultanément, on devra apprendre à mieux juguler les réactions immunitaires des receveurs. Des animaux clonés dont les modifications génétiques réduiraient notamment les réactions immunitaires du receveur représenteraient une réserve inépuisable de cellules.

Par clonage, on pourrait également obtenir des animaux dépourvus du gène du prion (l'agent responsable des encéphalopathies spongiformes bovines, ou maladie de la vache folle). Comme de nombreux médicaments contiennent de la gélatine ou d'autres produits d'origine bovine, on éviterait tout risque de contamination par des prions provenant d'animaux infectés.

Cette technique pourrait également réduire la transmission des maladies