

Silence éloquent

Les ARN messagers sont des intermédiaires essentiels entre les gènes et les protéines. On a découvert que des petites constructions moléculaires constituées de doubles brins d'ARN sont de puissants inhibiteurs de gènes. De tels inhibiteurs semblent très répandus parmi tous les organismes vivants, des parasites aux mammifères, des vers nématodes aux plantes et aux champignons. Dès qu'un ARN est en présence de l'ARN double brin correspondant, il est dégradé. L'expression des gènes est vitale, mais leur silence ne l'est pas moins. Ce mécanisme par l'ARN double brin serait un rempart naturel contre l'expression d'ADN étranger introduit accidentellement dans un génome. Ces ARN doubles brins pourraient être un instrument de choix pour identifier les innombrables gènes découverts dans le cadre du programme international de séquençage du génome humain.

Tempête dans un verre de bière

Pourquoi les bulles de la bière, sensées remonter vers le haut du verre, descendent-elles parfois? Des chercheurs australiens ont élucidé le mystère : le comportement des bulles dépend de leur taille et de la forme du verre. Les bulles situées au centre du verre remonte bien à la surface, mais entraînent du liquide avec elles, qui redescend le long des parois, en emportant la plus petites bulles vers le fond.

De la plume au plastique

Un chimiste américain a inventé un procédé pour transformer les plumes des poulets d'élevage en matières plastiques ou en fibres absorbantes. Le problème du recyclage des plumes est de taille : aux États-Unis, deux mille tonnes de plumes sont produites chaque

année. Seule la partie légère des plumes est intéressante : elle est séparée du tuyau central par déchiquetage et passage dans un courant gazeux. Après un traitement chimi-

que qui détruit les liaisons protéiques de la kératine, puis compression et laminage dans une presse hydraulique, les plumes sont sous forme de films plastiques. Cette matière plastique peu coûteuse a, de plus, l'avantage d'être biodégradable.

en fait des animaux de taille moyenne, dans leur groupe. D'après un premier examen, les crânes récoltés au Laos appartiennent tous à un même genre (nommé *Dicynodon*) dont les représentants vivaient à la fin de l'ère primaire. Les paléontologues les ont comparés aux figures représentant le crâne découvert par Counillon et ont conclu que celui-ci appartient aussi à ce genre. Parmi les auteurs anciens, plusieurs pensaient avoir affaire à un autre genre du début de l'ère secondaire. À l'époque, l'identification était difficile, car le fossile n'était qu'un fragment.

Le genre des reptiles découverts au Laos était répandu sur de nombreux continents : on en trouve des restes en Afrique australe, en Écosse, en Russie et en Chine. L'extension de son aire de répartition au Laos éclaire la paléogéographie.

À la fin de l'ère primaire, les terres étaient rassemblées en une gigantesque masse continentale, subdivisée en deux supercontinents, la Laurasia au Nord (composée de l'Amérique du Nord et de l'Eurasie), et le Gondwana au Sud.

Le bloc indochinois, qui faisait initialement partie du Gondwana, a lentement dérivé à travers l'océan avant d'entrer en contact avec l'Asie. Les reptiles laotiens se déplaçaient uniquement à pied sec : d'après leur anatomie, ils auraient été incapables de nager sur de grandes distances. Leur présence au Laos à la fin de l'ère primaire montre qu'un contact terrestre entre l'Indochine et l'Asie existait à l'époque. Elle confirme que la rencontre entre ces deux blocs avait eu lieu à la fin de l'ère primaire, il y a au moins 250 millions d'années.

«Cellules» entrouvertes

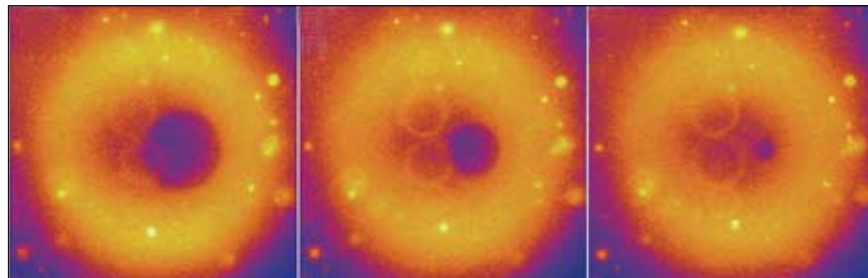
Quand elles adhèrent à un support, des cellules artificielles s'ouvrent et se dégonflent progressivement.

Comment introduire les principes actifs des médicaments dans les cellules de l'organisme? Ou comment y introduire l'ADN qui doit palier une déficience génétique? Pour atteindre les cellules, portées par le sang, les substances thérapeutiques doivent être solubles dans l'eau, mais alors elles ne peuvent pas traverser la membrane cellulaire, qui est imperméable aux composés hydrosolubles. À l'Institut Curie, Françoise Brochard et Olivier Sandre ont exploré l'ouverture de pores dans des «vésicules», qui sont des systèmes artificiels, analogues aux cellules vivantes. De tels pores pourraient être empruntés par des principes actifs si l'on savait commander leur ouverture. Doubles couches de molécules «amphiphiles» (ces molé-

cules ont une partie soluble dans l'eau et une partie non soluble), les membranes cellulaires sont équipées de canaux sélectifs, qui laissent entrer ou sortir les ions, et de diverses pompes ou systèmes qui absorbent les nutriments et évacuent les déchets. Toutefois ces pompes et systèmes ne véhiculent généralement pas les principes actifs des médicaments, parce que ces derniers ont une structure chimique différente de celle des molécules échangées par les cellules avec leur milieu.

Pourquoi la médecine est-elle quand même efficace? Les biologistes soupçonnaient l'existence de pores, c'est-à-dire d'ouvertures dans la membrane cellulaire. Pour déterminer comment ces pores s'ouvrent et se ferment, les physico-chimistes de l'Institut Curie ont examiné expérimentalement ceux de vésicules qu'ils créent *in vitro*.

Les vésicules sont constituées d'une membrane enfermant une solution aqueuse (qui provient du milieu où l'on a formé les vésicules). Dans de tels systèmes, on sait introduire à volonté des composés dont on examine la libération. Dans les expériences effectuées, les physico-chimistes ont introduit des



Fermeture d'un pore (en bleu), qui avait été ouvert sur la face supérieure d'une vésicule. Ces vésicules mesurent environ 50 micromètres de diamètre, et les pores subsistent une dizaine de secondes.

marqueurs fluorescents dans la membrane, afin d'observer l'ouverture des pores.

Ces dernières années, les recherches sur la thérapie génique ont conduit à plusieurs méthodes pour percer des trous dans les membranes cellulaires. L'électroporation, par exemple, est l'application d'un courant électrique dans la solution où les cellules sont suspendues. De même, l'ajout de détergents ou, plus généralement, de molécules amphiphiles variées modifie la perméabilité membranaire. Toutefois ces méthodes, bien qu'efficaces, restent mal comprises. Avec O. Sandre et L. Moreaux, F. Brochard a préféré étirer les membranes en utilisant les forces naturelles d'adhérence des vésicules à des supports (des verres diversement traités). En l'absence de tension, les vésicules se comportent comme des bulles «dégonflées» ; leur membrane ondule sous l'effet des incessants mouvements aléatoires des molécules. En revanche, les vésicules étirées par l'adhérence à un support ont une membrane qui se déplie et se met sous tension. Les premières observations ont montré que les vésicules devenaient alors extrêmement perméables à l'eau. Des pores s'ouvraient-ils et se fermaient-ils trop rapidement pour être observés au microscope ?

Pour observer l'ouverture des pores, les physico-chimistes ont modifié la viscosité de la solution où ils créaient les vésicules. Ils ont alors eu le temps d'observer que les vésicules sont comme une membrane tendue : quand un pore s'ouvre dans la membrane, celle-ci laisse échapper un peu de la solution interne ; la membrane est alors moins étirée, et le pore se referme. Plus on augmente la viscosité de la solution, plus on ralentit cette fuite du liquide encapsulé, et plus les trous restent ouverts longtemps.

Dans l'eau, les pores sont «avortés», car la fuite très rapide de liquide relâche la tension avant que les pores atteignent une taille observable par microscopie de fluorescence. Trop petits pour être observés, ces pores sont cependant géants à l'échelle moléculaire (100 à 1 000 fois plus gros que les canaux membranaires), ce qui explique que les vésicules sous tension, même très faible, deviennent des passoirs ! Les cellules vivantes, elles, sont équipées d'un cytosquelette (une sorte de filet de pêche, avec des mailles 100 fois plus grosses que des molécules) fixé à la membrane, ce qui limite sans doute la taille des pores. L'étude de globules rouges devrait révéler comment le cytosquelette modifie la taille des pores transitoires.

Comprenant la dynamique de ces pores, pourra-t-on administrer, avec les médicaments, des molécules qui modifieront la tension des membranes cellulaires, afin de favoriser l'entrée des principes actifs ?

Ver à soie transgénique

Aujourd'hui, on sait incorporer, à la demande, des gènes dans le génome du ver à soie : on pourra extraire de la soie des protéines d'intérêt thérapeutique.

Domestiqué depuis plus de 4 000 ans, le ver à soie, *Bombyx mori*, survit grâce à l'homme. Pour s'y métamorphoser, les vers fabriquent un cocon constitué d'un fil unique, plus long que un kilomètre. On dévide le cocon en faisant fondre, dans l'eau chaude, la protéine (le grès) qui protège le fil et assure la cohésion de l'ensemble. On récupère alors le précieux fil de soie sans le casser.

La soie est produite par les glandes séricigènes ; la chenille bave par une filière un fil fluide qui se solidifie rapidement à l'air. Les équipes lyonnaises de Gérard Chavancy et Bernard Mauchamp, à l'Unité séricicole de l'INRA, et de Pierre Couble, du Centre de génétique moléculaire et cellulaire du CNRS, ont obtenu une lignée transgénique de ver à soie qui produit, en même temps que la soie, la protéine codée par un gène étranger, introduit dans le génome du ver.

Cette lignée a été longue à obtenir, car, contrairement à la drosophile, voire aux petits mammifères, les vers à soie ne se sont pas laissés aisément modifier. Pour transformer la drosophile, on utilise depuis longtemps des constructions génétiques constituées d'un élément transposable auquel on accole le gène à étudier. L'élément transposable assure l'intégration de cette construction dans le génome de la drosophile. On a ainsi

obtenu des centaines de lignées de drosophiles génétiquement modifiées, mais la méthode n'est pas utilisable pour les vers à soie. Pour les mammifères, la méthode est encore plus simple, puisque l'on injecte directement dans le noyau de l'œuf modifié le gène étudié, lequel s'intègre spontanément dans le génome. En revanche, la méthode ne s'applique pas pour le ver à soie, car le noyau est difficilement accessible.

L'équipe de l'INRA semblait donc dans une impasse, quand on a découvert un autre «véhicule» de gène, l'élément nommé *PiggyBac*. Grâce à lui, on réussit désormais à introduire des gènes étrangers dans le génome du ver à soie. Dans les deux heures qui suivent la fécondation d'un œuf, on y introduit la construction génique, constituée de *PiggyBac* auquel est accolé le gène étranger ; l'ensemble s'intègre dans l'ADN du receveur. Lorsque le gène étranger est correctement intégré, il se transmet de génération en génération.

Quel est l'intérêt des vers à soie transgéniques ? Les glandes séricigènes «livrent» directement le produit recherché en même temps que la soie filée. Quand on réussit à faire produire à un animal une protéine d'intérêt, il reste souvent une difficulté de taille : sa récupération. Quand la protéine est produite par toutes les cellules de l'animal transgénique, on doit trouver une méthode d'extraction, par exemple en broyant les cellules, ce qui présente le risque d'extraire, en même temps que la protéine recherchée, des substances indésirables spécifiques de l'animal et entraînées avec la protéine intéressante lors du procédé de purification. C'est pourquoi l'on a mis au point des mammifères transgéniques : on recueille la protéine d'intérêt produite par les glandes mammaires en trayant



Larve de ver à soie transgénique, où l'on a introduit le gène d'une protéine fluorescente verte.

M. Mauchamp - Unité nationale séricicole - INRA