

**Texte de la 30^{ème} conférence de l'Université de tous les savoirs réalisée le 30 janvier 2000
par Louis-Marie Houdebine**

LA TRANGENESE ET SES APPLICATIONS

Les découvertes des cinquante dernières années nous ont familiarisé avec l'idée que la vie n'est qu'un ensemble de réactions physico-chimiques qui se déroulent à l'intérieur d'espaces bien délimités, les cellules. Ces actions sont effectuées pour une part essentielle par des protéines (enzymes, facteurs sanguins, hormones, anticorps, etc.) Les protéines de tous les organismes vivants sont composées des mêmes vingt acides aminés assemblés les uns derrière les autres pour former des chaînes dont la longueur est très diverse. Les protéines peuvent contenir de quelques unités à quelques milliers d'acides aminés. Le nombre de combinaisons théoriques des vingt acides aminés est considérable et l'ensemble des protéines existantes ne représente qu'une faible partie des possibilités. L'activité biologique des protéines est directement liée à l'enchaînement des acides aminés mais d'une manière très complexe. Les chaînes formant les protéines se replient de multiples manières qui sont définies par la séquence des acides aminés. Ces repliements forment les sites actifs des protéines.

La découverte des protéines s'est accompagnée de la mise en évidence d'une molécule omniprésente dans les organismes vivants : l'acide désoxyribonucléique ou ADN qui renferme l'information génétique. Cette molécule est formée d'une chaîne de phosphate et de désoxyribose sur laquelle sont accrochées quatre structures appelées bases et symbolisées par les lettres ATGC.

De multiples observations ont montré qu'un gène est constitué par une région de la chaîne d'ADN et qu'à un gène correspond essentiellement une protéine. Des études systématiques ont permis d'établir que la succession des bases dans un gène définit directement l'enchaînement des acides aminés de la protéine correspondante selon un code universel : le code génétique. Trois bases successives déterminent ainsi quel acide aminé doit participer à la formation de la protéine.

L'ADN peut donc considérer comme une banque de données dont la cellule fait usage en fonction de ses besoins en protéines. Une copie d'un gène sous la forme d'un acide ribonucléique messenger (ARNm) est formé à la demande de la cellule et décrypté pour synthétiser la protéine correspondante. Ces faits établis il y a bientôt quarante ans définissaient déjà tout le principe du génie génétique. En effet, si les messages génétiques contenus dans l'ADN ne sont définis que par la succession des quatre bases, il doit être possible de modifier ces messages voire d'en créer de nouveaux dès lors que l'on maîtrise la chimie de l'ADN. Les techniques essentielles qui permettent de manipuler ainsi l'ADN ont été définies il y a maintenant un peu plus de vingt ans et avec elles est né le génie génétique qui est désormais un outil très largement utilisé dans de nombreux laboratoires.

Il est admis qu'il y a une continuité stricte entre la matière inorganisée qui a précédé le Big Bang il y a quinze milliards d'année et la matière très organisée que constituent les organismes vivants apparus sur la terre il y a quatre milliards d'années. Les minéraux représentent un état de complexité intermédiaire.

Les organismes vivants sont eux-mêmes d'une complexité très variable qui va croissante des bactéries aux mammifères et à l'homme en passant par les levures et les plantes. Très logiquement, on constate que les organismes vivants les plus complexes sont ceux qui ont le

plus grand nombre de gènes. Les bactéries ont ainsi de 350 à 4000 gènes, les levures environ 6000, un des plus petits animaux connus de la famille des nématodes 19099, les plantes environ 20000 et l'homme autour de 100000 (le chiffre proche de la réalité sera connu au cours de l'année 2000). Ces données sont particulièrement révélatrices de la manière dont l'évolution a procédé pour faire émerger les différentes espèces. Les mammifères sont en effet beaucoup plus complexes que les bactéries et ils n'ont pourtant que 50 fois plus de gènes. Les biologistes savent déjà que les gènes, les protéines et les molécules qui en dérivent sont capables d'interagir de manière de plus en plus complexe au fur et à mesure que l'organisme est lui-même devenu plus évolué. La complexité du vivant naît donc au moins autant d'une combinatoire de plus en plus sophistiquée de molécules qui le compose que d'une accumulation des informations génétiques primaires.

1/ Des gènes au génie génétique

Ces faits ont une répercussion directe et profonde sur les expériences impliquant le génie génétique. Les techniques actuelles permettent virtuellement d'isoler n'importe quel gène, d'en étudier la structure, de le modifier et de le réintroduire dans une cellule ou un organisme vivant. Cette dernière opération est une des plus essentielles. Un gène peut en effet se comparer à une bande magnétique. Tous les deux contiennent des messages linéaires codés et aisément modifiables. Ces messages sont en soi inertes. Ils n'ont d'intérêt que par les produits qui en sont issus : une image ou un son dans un cas, une protéine dans l'autre cas. Une différence fondamentale existe toutefois entre les deux systèmes ; le lecteur de bande magnétique est indifférent au message qu'il décode ce qui n'est le plus souvent pas le cas pour les gènes dans la mesure où les protéines peuvent agir sur la cellule ou sur l'organisme entier qui les synthétisent.

Un gène peut dans une certaine mesure être comparé à un micro-ordinateur qui contient un message spécifique. L'introduction d'un gène isolé dans une cellule et a fortiori dans un organisme entier revient alors à connecter le micro-ordinateur à un réseau de micro-ordinateurs déjà interconnectés et interagissant. Une telle incursion peut enrichir le réseau de manière harmonieuse ou à l'inverse perturber profondément son fonctionnement.

La transgénèse est l'opération qui consiste à ajouter un gène étranger à un organisme pluricellulaire (plantes ou animaux) entier ou à remplacer un des ses gènes par un autre. Il est bien évident que dans l'un et l'autre cas, les effets du transgène sur l'organisme ne peuvent être totalement prévisibles aussi bien connues que soient les propriétés du gène étranger et de la protéine correspondante. La transgénèse est donc par essence un retour au complexe, l'isolement d'un gène et son étude *in vitro* étant au contraire une étude volontairement réductionniste. Les conséquences d'une transgénèse sont donc a priori inévitablement en partie inconnues. La gestion du complexe que représentent l'agriculture et l'élevage est en réalité une activité très familière pour les communautés humaines. La sélection génétique consiste classiquement à repérer les effets biologiques intéressants (prolificité, résistance aux maladies etc.) apparus spontanément chez quelques individus au hasard de la redistribution des gènes lors de la reproduction sexuée et de mutations résultant d'erreurs dans la réplication de l'ADN. La reproduction privilégiée des individus dotés des propriétés biologiques intéressantes conduit progressivement à l'établissement de lignées ou de races. Cette méthode de sélection a largement fait ses preuves et nous en bénéficions grandement. La sélection classique est toutefois une opération le plus souvent réalisée en aveugle. Le sélectionneur ne sait en effet le plus souvent rien des gènes qu'il a sélectionnés ni de leurs effets individuels. Seul le résultat global est généralement pris en compte. Le remaniement des chromosomes

dans les cellules germinales consiste à redistribuer les gènes parentaux de manière aléatoire. Ceci explique que les enfants d'un même couple sont différents. Le remaniement des chromosomes parentaux concerne de longs segments d'ADN qui portent de nombreux gènes contigus. La sélection d'un gène ayant un intérêt biologique attendu s'accompagne donc inévitablement de la co-sélection de gènes voisins inconnus dont les effets ne sont pas toujours bénéfiques. Ainsi, des taureaux, des verrats, etc. retenus comme géniteurs en raison de leur potentiel génétique intéressant s'avèrent parfois à l'usage porter également un gène parfaitement nuisible pour l'élevage. Ces géniteurs doivent alors être éliminés non sans parfois avoir entraîné des pertes financières importantes. Il en est de même pour la sélection végétale.

La transgénèse évite, par essence, une bonne partie de ces effets imprévisibles. La modification génétique qu'elle représente a des effets en grande partie attendus, dans la mesure où les propriétés du gène étranger sont elles-mêmes connues. La transgénèse ne correspond par ailleurs qu'à une seule modification génétique de l'organisme. La transgénèse vue ainsi est donc en principe moins hasardeuse que la sélection classique. Tout bien considéré, les mutations obtenues par transgénèse ne sont généralement pas plus complexes que celles engendrées par les mécanismes naturels à chaque cycle de reproduction. La gestion des organismes transgéniques peut donc logiquement s'inspirer de celle des organismes obtenus par sélection classique.

2/ Les techniques de transfert de gènes

Le transfert d'un gène isolé à un organisme n'est qu'exceptionnellement un phénomène spontané. Si tel n'était pas le cas, l'intégrité des espèces ne serait pas une réalité puisque les organismes vivants sont très fréquemment en contact direct avec l'ADN d'autres espèces. Les virus qui ne sont constitués que de quelques gènes associés à des protéines ont une capacité exceptionnelle à pénétrer dans les cellules. Ce processus que l'on nomme une infection est primordiale pour le virus qui doit absolument utiliser la machinerie cellulaire dont il est dépourvu pour se répliquer. L'introduction de gène étranger destiné à obtenir des organismes transgéniques requiert donc des méthodes expérimentales variées. La plus utilisée chez les animaux consiste à procéder à une microinjection directe du gène isolé en solution dans le noyau ou le cytoplasme d'un embryon au stade une cellule. Dans une petite proportion de cas (de l'ordre de 1%) le gène étranger s'intègre à l'ADN de l'embryon et se transmet ainsi à ses cellules filles puis à sa descendance.

Cette méthode ne peut être appliquée aux végétaux. Deux techniques sont dans ce cas le plus souvent utilisées. L'une consiste à introduire le gène étranger dans un vecteur dérivé d'une bactérie. Celui-ci pénètre aisément dans la cellule végétale et s'intègre dans son ADN. L'autre méthode est utilisée pour les végétaux ne pouvant bénéficier du vecteur. Elle consiste à faire pénétrer de force des microbilles métalliques enrobées d'ADN contenant le gène étranger dans les cellules végétales en les projetant à haute vitesse. Dans l'un et l'autre cas, le transfert de gène doit être suivi d'une régénération complète d'une plante à partir de la cellule ayant subi la modification génétique.

L'addition de gène est l'opération la plus simple et de loin la plus fréquemment pratiquée. Le remplacement spécifique de gène est également hautement souhaitable. Il permet en pratique de remplacer un gène de l'organisme par un gène inactif (ceci revient alors à supprimer sélectivement un gène de l'organisme) ou par un autre gène actif. Cette opération n'est actuellement possible que chez les animaux (et les microorganismes). Elle implique en effet

que l'ADN étranger contenant le gène de remplacement reconnaisse très spécifiquement le gène ciblé pour pouvoir se substituer à lui par un processus de recombinaison homologue. Cette opération n'est finalement couronnée de succès que si la cellule dans laquelle a eu lieu le remplacement de gène peut donner naissance à un organisme entier. Cette régénération très couramment pratiquée chez bon nombre de plantes est particulièrement malaisée chez les animaux. En pratique, la cellule animale modifiée doit être celle d'un embryon précoce capable, une fois introduite dans un embryon précoce hôte, de participer au développement de l'organisme jusqu'à transmettre la mutation à la descendance. Cette méthode laborieuse est utilisée depuis plus de 10 ans mais, pour des raisons techniques, chez la souris seulement. Le remplacement de gène par recombinaison homologue a donc pendant une décennie été réservée à cette seule espèce.

Une autre approche très séduisante peut en principe reposer sur la technique de clonage des animaux. Cette technique mise au point il y a environ quinze ans consiste à reconstituer l'équivalent d'un embryon en introduisant le double stock de chromosomes d'une cellule dans un ovocyte préalablement énucléé. Ceci n'a pendant longtemps été possible qu'en partant de cellules embryonnaires non différenciées (totipotentes) et non cultivées. Des améliorations techniques relativement minimales ont permis d'obtenir des clones de moutons en partant de cellules embryonnaires totipotentes cultivées (un an avant la naissance de Dolly) puis à partir de cellules fœtales différenciées et enfin de cellules adultes. Ces expériences ont été menées essentiellement pour tenter de simplifier la technique de transgénèse. Il est en effet en principe possible de transférer des gènes étrangers dans des cellules cultivées utilisées ensuite pour engendrer des animaux qui se trouvent être transgéniques. L'addition de gène a ainsi été couronnée de succès (naissance de Polly) un an après la naissance de Dolly. En 1999, le remplacement de gène chez les moutons a pu être obtenu par recombinaison homologue par le même procédé.

L'addition de gène est ainsi simplifiée et le remplacement de gène est devenu possible chez les ruminants domestiques et très vraisemblablement chez d'autres espèces dans le futur.

Les fragments d'ADN qui sont utilisés pour la transgénèse sont généralement construits au laboratoire pour diriger l'expression du gène étranger spécifiquement dans un tissu donné. La connaissance limitée que l'on a actuellement du mode de fonctionnement des gènes ne permet encore qu'une approche empirique raisonnée dans la construction des futurs transgènes. Des progrès rapides récents dans ce domaine laisse prévoir pour un avenir assez proche un contrôle satisfaisant du fonctionnement des transgènes dans la majorité des cas.

3/ Les applications de la transgénèse

La transgénèse, a dès ses débuts chez les animaux en 1981 puis en 1983 chez les plantes, été définie avant tout comme un outil de recherche. L'addition ou le retrait d'une information génétique dans un organisme entier est en effet un moyen incontournable pour déterminer les mécanismes moléculaires qui contrôlent le fonctionnement des gènes et le rôle des gènes eux-mêmes dans l'expression des fonctions biologiques. L'identification systématique et massive des gènes de certains organismes par le séquençage complet de leur ADN va logiquement être suivie d'une utilisation plus intense de la transgénèse chez quelques organismes modèles comme la souris et le tabac.

La maîtrise du vivant que représente la transgénèse a rendu possible des applications nouvelles dans le domaine médical et agricole. L'étude des maladies humaines ne peut

se passer de modèles animaux. Les modèles pertinents résultant de mutations spontanées sont rares. Dans le meilleur des cas, des modèles particulièrement précieux peuvent être obtenus par addition ou remplacement de gènes. C'est surtout la souris qui est sollicitée en raison de son faible coût d'utilisation. D'autres espèces sont parfois nécessaires pour diverses raisons, c'est le cas notamment du rat, du lapin, du porc et des primates non humains. Cette approche expérimentale est devenue récemment plus simple et potentiellement plus utile à la suite de l'amélioration des techniques de transgénèse.

Les animaux et les plantes sont depuis des temps immémoriaux la source de substances dotées de propriétés pharmacologiques. Ces substances n'ont, par le passé, été que rarement des protéines. Jusqu'à une époque récente en effet, un nombre relativement petit de protéines était connu et seulement quelques-unes d'entre elles pouvaient être extraites pour être administrées à l'homme. C'était le cas de l'insuline de porc pour le traitement des diabétiques. Le génie génétique offre la possibilité de préparer virtuellement n'importe quelle protéine en abondance en transférant le gène correspondant dans des bactéries, des levures, des plantes ou des animaux. L'insuline et l'hormone de croissance humaine proviennent désormais essentiellement de bactéries recombinées. Plusieurs dizaines de protéines d'intérêt pharmaceutique ont été obtenues à partir du lait d'animaux ou de plantes transgéniques. La première protéine extraite ainsi du lait doit être mise sur le marché en 2000. Beaucoup d'autres suivront et on peut considérer qu'une nouvelle branche de l'industrie pharmaceutique est née.

La transgénèse peut jouer un rôle décisif dans le domaine des greffes d'organes. Plusieurs milliers de personnes meurent chaque année en France par manque de greffon humain. L'impossibilité qu'il y a et qui persistera sans doute longtemps de remédier à cette situation a fait resurgir une idée déjà ancienne. Certains organes ou cellules des animaux et notamment ceux du porc pourraient probablement être utilisés à la place de matériel humain. Les rejets extrêmement violents des organes animaux ont jusqu'à maintenant empêchés les xénogreffes de devenir une réalité. Des succès partiels mais bien réels ont été obtenus dans la dernière décennie du XX^{ème} siècle. Des cœurs et des reins de porcs transgéniques abritant des gènes capables d'inhiber le système du complément humain responsable du rejet hyper-aigu des éléments étrangers ont pu être maintenus, intègres, pendant plusieurs semaines après avoir été greffés à des singes.

De multiples obstacles, y compris dans le domaine de la connaissance des mécanismes de rejet, restent à franchir pour que la xénogreffe devienne une réalité médicale. La xénogreffe peut toutefois dans l'avenir concerner plus les cellules qui sont moins sujettes aux rejets que les organes. La démonstration récente que des cellules embryonnaires humaines peuvent être différenciées *in vitro* en cellules souches d'organes laisse penser que des cellules humaines préparées de cette manière pourraient être dans l'avenir utilisées plutôt que leurs homologues d'origine porcine. La situation actuelle incite à imaginer que la xénogreffe ou la greffe à partir de cellules humaines différenciées pourraient être retenues comme moyen thérapeutique au cas par cas en fonction des problèmes à résoudre. Le transfert de gène dans les cellules ou via la transgénèse pourrait permettre aux cellules porcines non seulement d'être mieux tolérées mais également d'apporter des protéines ayant une activité thérapeutique. Une thérapie génétique serait alors réalisée en même temps qu'une thérapie cellulaire.

Les applications agronomiques de la transgénèse commencent à être significatives, en ce qui concerne les végétaux. Elles sont, pour des raisons techniques, tout juste naissantes chez les animaux. La transgénèse permet dans certains cas de conférer aux plantes et aux animaux une

résistance contre les maladies. Ceci se traduit ou se traduira par une moindre utilisation de pesticides et d'antibiotiques ainsi que par une simplification de la tâche des agriculteurs et des éleveurs. La résistance des animaux à des maladies devenue ainsi génétiquement transmissible a par ailleurs toutes les chances de réduire la souffrance des animaux, de permettre de consommer des viandes plus saines et diminuer la fréquence des zoonoses.

Certains projets de transgénèse n'ont d'autre but que de réduire la pollution. Des porcs transgéniques expérimentaux rejettent ainsi deux fois moins de phosphate dans l'environnement. Des plantes transgéniques ont été spécialement conçues pour capter certains ions métalliques toxiques présents spontanément dans le sol ou apportés à la suite d'une activité industrielle.

Des plantes capables de se développer dans des sols salés ou alcalins impropres à l'agriculture ont été obtenues par transgénèse. Ceci permet d'envisager de conquérir de nouvelles terres.

La modification volontaire de la composition des plantes ou des animaux via la transgénèse peut permettre de fournir aux consommateurs des aliments plus riches en éléments essentiels voire plus saines. Le riz doré capable d'apporter un supplément de vitamine A aux 400 millions d'êtres humains qui en manquent et sont menacés de devenir aveugles ainsi que de fer aux 4 milliards de personnes carencées est un exemple éloquent. Le transfert de plusieurs gènes a dû être réalisé pour atteindre ce but.

Diverses améliorations des produits animaux sont également envisagées. Elles concernent la composition du lait, des graisses, de la carcasse, de la laine, etc.

Il est intéressant de mentionner également que les végétaux qui sont déjà la source de molécules non destinées à l'alimentation humaine ou animale vont de plus en plus être sollicités pour servir comme base à la synthèse de plastiques biodégradables, de carburants, etc. La transgénèse peut dans certains cas apporter des solutions uniques ou originales et très satisfaisantes.

4/ Les problèmes posés par la transgénèse

La transgénèse est actuellement vue surtout par ses applications très marginales mais spectaculaires dans l'alimentation humaine. Les OGM (organismes génétiquement modifiés) ont très mauvaise presse. Ce fait ne laisse de surprendre la majorité des biologistes qui considèrent que la transgénèse appliquée à l'alimentation est à priori une des techniques puissantes les moins dangereuses que l'humanité ait inventées. Certes, un organisme transgénique est par définition en partie inconnu, mais cela est aussi le cas d'un organisme obtenu par sélection classique ou d'un aliment exotique. Les tests classiques de toxicité, oncogénicité et allergénicité accompagnés d'une traçabilité raisonnable doivent pouvoir réduire les risques à un niveau bien inférieur à celui de beaucoup d'autres techniques très généralement acceptées. Il est incontestable que certaines plantes, transgéniques ou non, posent des problèmes environnementaux dont l'importance ne peut pas être aisément évaluée. Les modèles de laboratoire ne peuvent en effet que difficilement prendre en compte de manière satisfaisante des paramètres comme l'espace et le temps. Les biotechnologistes ont quelque difficulté à imaginer comment leurs actions dans le domaine agronomique pourraient faire ne serait-ce que dix ou cent fois moins de victimes que l'automobile. Les réticences actuelles des consommateurs ne sont toutefois pas incompréhensibles. Toute nouveauté effraie. Les condamnations actuelles des OGM ressemblent à s'y méprendre à celles

appliquées aux vaccins il y a un siècle. Il est vrai qu'une désinformation qui a atteint un niveau peu commun ne fait qu'entretenir la confusion. Les critiques vis à vis des OGM sont en fait bien souvent dirigées plus contre la société libérale mal contrôlée que contre la technique elle-même. Les OGM en font actuellement les frais. Il est vrai que leur utilisation ne devrait pas tomber sous la coupe d'entreprises qui détiennent des monopoles de fait. L'obtention du riz doré financée par l'Union Européenne et la fondation Rockefeller indique que la situation est bien plus ouverte et diverse que certains ne le prétendent. Les réticences des pays riches vis à vis des OGM ne sont pas partagées par ceux qui souffrent de pénuries alimentaires. Les chinois consomment ou utilisent actuellement au moins sept plantes transgéniques. Il ne semble pas que ces cultures se fassent sans contrôle. Les agriculteurs chinois s'appuient en effet sur les résultats des expériences réalisées dans les pays développés et notamment les USA. L'avenir de l'agriculture ne peut reposer sur un retour aux techniques anciennes, pas plus que la médecine traditionnelle ne saurait être un remède à certaines dérives des pratiques médicales modernes. Une application raisonnée des techniques agronomiques modernes, y compris de la transgénèse, paraît plus appropriée. En face de la demande croissante des consommateurs humains, le principe de précaution invite à mettre à notre disposition toutes les techniques de transgénèse pour optimiser les productions végétales et animales, quitte à ne pas les utiliser si des alternatives au cas par cas s'avèrent tout aussi efficace.

La transgénèse appliquée à l'espèce humaine est en principe possible. Tout le monde ou presque s'accorde pour considérer qu'une telle opération ne devrait comporter aucun risque technique et ne concerner que des activités thérapeutiques. La première condition n'est pas actuellement remplie mais on peut imaginer que cela sera un jour le cas. Les thérapies géniques germinales ne peuvent raisonnablement concerner que le remplacement de gènes responsables de maladies humaines par leurs homologues non mutés. Ce type d'opération est et restera probablement difficile et elles devront être accompagnées de contrôles stricts pour s'assurer que la modification génétique induite est bien celle que l'on attendait. Cette approche thérapeutique se trouverait en compétition directe avec le tri des embryons portant les gènes défectueux. Il y a tout lieu de penser que la deuxième solution paraîtra majoritairement comme la plus satisfaisante.

La modification du patrimoine génétique d'un être humain non destinée strictement à remplacer un gène défectueux par un gène sain paraît difficilement envisageable sans risque. L'addition d'un gène, conférant une résistance vis à vis d'une maladie infectieuse, paraît séduisante à première vue. Nul ne peut prévoir tous les effets du transgène et ce qui est acceptable pour les animaux et les plantes ne l'est plus pour l'espèce humaine. Il est concevable de procéder à des transgènes réversibles. Ceci ne paraît pas suffire à justifier l'utilisation de cette technique pour l'espèce humaine.

Les générations qui nous suivront trouveront peut-être légitime et souhaitable de modifier le patrimoine génétique humain pour toute sorte de bonnes raisons. On pourrait en effet par exemple souhaiter que les êtres humains soient plus sereins et moins féroces envers leurs semblables ou plus modestement qu'ils aient une vieillesse biologiquement plus douce. Il n'est en rien certain que la transgénèse, dans le meilleur des cas, puisse apporter une solution à des problèmes aussi complexes. Quoiqu'il en soit, il serait sans doute prétentieux de condamner par avance les décisions de nos descendants. Il nous suffit, dans les faits, d'être pleinement en accord avec nos convictions actuelles. Elles nous indiquent sans ambiguïté que la transgénèse ne doit pas être appliquée à l'espèce humaine.