



DE MENDEL AU CLONAGE

Rose-Evelyne Wolf

Mardi 21 janvier 1992

Mardi 21 janvier, Rose-Evelyne Wolf, biologiste, chargée d'exposés au Palais de la Découverte, nous a parlé de l'évolution de la génétique de "Mendel au clonage".

I - La génétique formelle -

Les êtres vivants transmettent à leurs descendants un ensemble de caractères. Ce phénomène a reçu le nom d'**hérédité**. Il s'impose au sens commun par l'observation même superficielle : l'enfant rappelle tantôt le père, tantôt la mère, tantôt l'un et l'autre ou encore un aïeul plus ou moins lointain.

Le phénomène a toujours excité la curiosité : déjà vers 1750, Réaumur (physicien naturaliste) faisait coabiter des poules à 4 doigts avec un coq à 5 doigts, et des poules à 5 doigts avec un coq à 4 doigts pour observer leur descendance.

Le véritable fondateur de la génétique est le moine autrichien Johann Gregor Mendel. A partir des variations observées en croisant différentes variétés de petits pois, il établit les lois fondamentales de transmission des caractères. Madame Wolf illustrera ces lois devant nous.

Hypothèses :

1 - ce sont les instructions nécessaires à la réalisation des caractères qui sont transmises.

2 - pour un caractère donné, chaque individu possède deux instructions identiques ou différentes. Chaque instruction lui a été donnée par l'un de ses deux parents.

- **La première loi** introduit des notions de **dominance** et de récessivité entre les différentes instructions correspondant à un même caractère.

Ainsi, si on considère un couple dans lequel les deux parents expriment deux groupes sanguins différents, le **A** et le **O** par exemple, et si dans ce couple chaque parent possède deux fois la même instruction pour le groupe qu'il exprime :

- . instruction **A** + instruction **A** pour le parent 1
- . instruction **O** + instruction **O** pour le parent 2

Tous les enfants de ce couple expriment le même groupe, ici le groupe **A**. On en déduit que l'instruction groupe **A** domine l'instruction groupe **O**.

De même quand,

- . instruction **B** + instruction **B** pour le parent 1
- . instruction **O** + instruction **O** pour le parent 2

On observe que tous les enfants de ce couple expriment le groupe **B** et on conclut que l'instruction groupe **B** domine l'instruction groupe **O**.

Par contre quand,

- . instruction **A** + instruction **A** pour le parent 1
- . instruction **B** + instruction **B** pour le parent 2

On observe que les deux instructions sont équivalentes car tous les enfants expriment un groupe intermédiaire : le groupe **AB**.

Les instructions comme le groupe **O** sont dites **récessives**. Elles ne peuvent s'exprimer que quand elles figurent en deux exemplaires sur deux.

- **La deuxième loi** précise que lors de la formation des cellules sexuelles de chaque parent, les deux instructions sont séparées et placées dans des cellules sexuelles différentes. Chaque cellule sexuelle de chaque parent ne contient qu'une instruction par caractère.

Par exemple, quand au moins l'un des deux parents possède deux instructions différentes pour le caractère étudié :

- . instruction **A** + instruction **O** pour le parent 1
- . instruction **B** + instruction **O** pour le parent 2

Le parent 1 fabrique donc en quantité égale des cellules sexuelles avec l'instruction **A** et des cellules sexuelles avec l'instruction **O**. Le parent 2 fabrique en quantité égale des cellules sexuelles avec l'instruction **O** et des cellules sexuelles avec l'instruction **B**.

- **La troisième loi** concerne le cas où on considère simultanément plusieurs caractères différents : groupes sanguins, couleurs des yeux, des cheveux, etc. Lors de la formation des cellules sexuelles, les instructions correspondant à des caractères différents se comportent indépendamment les unes des autres.

Ces lois s'appliquent aux diverses espèces animales et végétales pour les caractères morphologiques et physiologiques.

II - La génétique moléculaire -

Cinquante ans plus tard (1910), grâce à de nouvelles connaissances sur la structure et le cycle de vie des cellules, Morgan en travaillant sur la mouche du vinaigre, montre que les facteurs responsables de la transmission des caractères héréditaires, ce qu'on appelle aujourd'hui les **gènes**, sont portés par des structures appelées **chromosomes**. Chaque gène a un emplacement déterminé sur un chromosome précis. Les chromosomes se trouvent dans le noyau de la cellule.

Trente ans plus tard (1940), le matériel d'étude des premiers généticiens à savoir les petits pois, le maïs, les souris, les mouches, perd du terrain au profit de micro-organismes de type champignons microscopiques, bactéries et virus. Ainsi, à partir de variétés diverses du champignon "Neurospora", G.Beadle et E.Tatum établissent que chaque gène contrôle la formation d'une substance chimique à savoir une chaîne protéique.

Quatre ans plus tard (le rythme des découvertes s'accélère), en étudiant la toxicité de souches bactériennes de type "pneumocoque", O. Avery, M. Mac Carty et C. MacLeod démontrent qu'une substance qu'ils appellent **ADN** (Acide désoxyrique-bonucléique) est le support chimique du matériel génétique. Bien sûr l'ADN est retrouvé dans les chromosomes identifiés auparavant par Morgan. En 1953, un modèle moléculaire sera proposé par Watson et Crick pour cet ADN. C'est le fameux modèle de la double hélice dans lequel deux hélices sont enroulées autour du même axe.

Chaque hélice est constituée par une succession de molécules de sucre et de molécules de phosphate placées en alternance les unes aux autres. Les deux hélices sont reliées entre elles par des barreaux composés de deux molécules de bases chacun.

Dans l'ADN, l'information héréditaire est donnée par l'ordre d'enchaînement des bases. L'ADN est considérée comme une succession de triplets de bases. Chaque groupe de trois bases s'appelle un **codon**. La cellule traduit la suite de codons de l'ADN en une suite d'acides aminés de chaîne protéique.

La correspondance entre un codon et un acide aminé particulier est appelé **code génétique**. A quelques exceptions près, ce code qui a été déchiffré dans les années 1960, est universel, c'est-à-dire que le même codon correspond au même acide aminé quel que soit l'être vivant.

III - Le génie génétique -

Le génie génétique est l'ensemble des techniques d'intervention sur le matériel génétique.

I - les débuts :

Historiquement, l'une des premières techniques employées est la **mutagenèse**. Elle consiste à provoquer des mutations dans la molécule d'ADN grâce à des agents mutagènes comme le rayon X. Une mutation étant un changement dans la constitution d'un gène par modification de une ou quelques bases dans la molécule d'ADN. Spontanément, pour un gène donné, c'est un événement très rare (il survient dans une cellule sur un million).

Ainsi, en provoquant des mutations chez le champignon qui fabrique l'antibiotique pénicilline (*Penicilium chrysogenum*) on a augmenté la production de cet antibiotique de 10 000 fois par rapport à la souche d'origine découverte par Fleming. Cette technique qui a apporté beaucoup à l'industrie pharmaceutique était malgré tout lente et fastidieuse.

Autre technique, déjà ancienne, la **recombinaison génétique**. Il s'agit de la combinaison entre les matériels génétiques provenant de deux organismes différents. Cette technique a eu un débouché important récemment en immunologie : la fabrication d'anticorps monoclonaux dont la méthode a été mise au point en 1975.

Aujourd'hui, les anticorps monoclonaux sont vendus dans le commerce pour toutes sortes d'utilisation notamment :

- . tests de diagnostic de grossesse
- . tests de détermination de groupes sanguins

Autrefois, pour ces tests, on utilisait des sérums d'animaux. Les anticorps intéressants y étaient mélangés à diverses substances plus ou moins indésirables.

Bien sûr, les diverses techniques sont souvent combinées entre elles au profit d'une même cause : ainsi dans les élevages industriels d'animaux dont l'alimentation est uniquement à base de protéines végétales, il faut, pour assurer aux animaux une croissance normale, apporter de la vitamine B12 à la nourriture. Les animaux ne savent pas synthétiser cette vitamine dont l'origine est bactérienne. Les bactéries sont donc traitées par les techniques de mutagenèse et de recombinaison génétique pour augmenter leur rendement de production de vitamine B12.

2 - Le clonage de gène :

La grande innovation des années 1970 est le clonage de gène qui est à la base de nombreuses manipulations génétiques. Globalement, il s'agit d'intégrer un gène provenant d'un organisme donneur dans le matériel génétique d'un organisme receveur.

3 - Les premières retombées :

Une fois le gène cloné, plusieurs applications sont possibles :

En recherche fondamentale par exemple, on isole le gène, soit pour étudier sa structure, soit pour le faire fonctionner dans différentes conditions pour étudier les mécanismes de régulation des gènes.

En recherche appliquée, on fera fonctionner le gène dans l'hôte choisi pour produire des substances diverses, notamment celles qui sont rares ou difficiles à isoler. Il s'agit là d'une domestication des micro-organismes qui ouvre des perspectives immenses dans de nombreux domaines.

a) - l'agriculture :

Les plantes vertes ne peuvent utiliser l'azote que quand celui-ci est incorporé dans des composés chimiques solubles comme l'ammoniac, par exemple. Heureusement la nature qui fait bien les choses a prévu des associations entre plante et micro-organisme pour le bénéfice des deux partenaires : on parle de symbiose. Les haricots par exemple, vivent en relation symbiotique avec une bactérie le "rhizobium" qui se multiplie dans les racines. La plante nourrit la bactérie qui, en contre partie, lui apporte de l'ammoniac. Le problème est que la fixation de l'azote atmosphérique par la bactérie consomme beaucoup d'énergie captée chez la plante.

Par génie génétique, on peut améliorer le rendement énergétique. La bactérie modifiée consomme moins d'énergie, et l'énergie économisée par la plante lui sert à augmenter sa production de grain. Ainsi est réduite la dépendance de la plante vis-à-vis des engrais azotés qui coûtent cher.

b) - l'écologie :

Dans les océans vivent des bactéries (ex : pseudomonas putida) capables de dégrader le pétrole. Mais, en cas de pollution accidentelle elles sont trop peu nombreuses pour être efficaces rapidement. De plus chaque souche ne dégrade que certains composants du pétrole.

Le but du génie génétique est de les faire proliférer et de leur "ouvrir l'appétit". Par modification génétique, on a pu regrouper les différentes possibilités de dégradation dans une même souche. Cette souche dégrade le pétrole plus vite que chacune des souches d'origine.

En dehors des marées noires, certaines bactéries sont soumises au génie génétique pour augmenter leur capacité de dégradation des eaux usées et des déchets industriels.

c) - la médecine :

Dans le domaine médical, le génie génétique peut intervenir à deux niveaux : la prévention ou le traitement.

- **Au niveau de la prévention** : on peut retenir deux principaux bénéficiaires : la fabrication de vaccin et le diagnostic prénatal. Ainsi, le vaccin contre le virus de l'hépatite B est constitué "d'antigène HBS" qui est la protéine du virus contre laquelle le système de défense est dirigé.

Jusqu'à récemment cette substance HBS était purifiée à partir de plasma de convalescents avec quatre inconvénients majeurs :

- . un rendement d'extraction faible
- . un manque de donneurs
- . une purification onéreuse
- . un risque de contamination par le virus du SIDA

Aujourd'hui des antigènes de surface du virus de l'hépatite B produits par un champignon microscopique (la levure de bière) modifié par génie génétique sont à la base d'un vaccin déjà sur le marché.

Pour le diagnostic prénatal, dans le cas d'hémophilie par exemple, l'ancienne méthode consistait à mesurer la concentration du "facteur 8" dans le sang foetal avec l'inconvénient que le prélèvement de sang foetal se fait à la 22ème semaine de grossesse, ce qui est trop tard pour pratiquer un avortement si l'enfant est hémophile.

Aujourd'hui, grâce au génie génétique, on isole le gène du foetus pour le comparer au gène normal. Le gène provient de cellules foetales prélevées à la 10ème semaine de grossesse par biopsie chorale.

- **Au niveau des traitements** : deux maladies bénéficient déjà des bienfaits du génie génétique, il s'agit du nanisme hypophysaire et du diabète.

. le nanisme hypophysaire :

Certaines formes de nanisme sont dues à un manque d'hormone de croissance. C'est une hormone secrétée par une glande située à la base du cerveau : l'hypophyse. Jusqu'ici, on corrigeait le défaut en administrant au patient de l'hormone de croissance extraite de cerveaux de cadavres humains. Seulement il y avait deux inconvénients :

. d'abord, pas assez de cadavres pour tous les patients. Pour une dose d'hormone il faut de nombreux cadavres.

. ensuite, il existe un risque de contamination de la préparation d'hormone par un agent infectieux non diagnostiqué chez une personne décédée.

• le diabète insulino-dépendant : certaines formes de diabète sont dues à une absence totale d'insuline, hormone fabriquée par le pancréas. Avant le génie génétique, ces personnes survivaient en recevant chaque jour de l'insuline extraite de pancréas de porcs ou de boeufs tués à l'abattoir. L'ennui est que certaines personnes étaient allergiques à ces préparations d'origine non humaine.

Aujourd'hui, avec le génie génétique, ce sont des bactéries manipulées génétiquement qui fournissent l'hormone de croissance humaine et l'insuline humaine, ceci en quantité illimitée, sans risque ni réaction allergique, ni contamination microbienne.

4 - Les espoirs pour un avenir proche :

Domestiquer les micro-organismes c'est bien, mais l'idéal est quand même de greffer directement le gène intéressant dans l'organisme qui en a besoin. Actuellement c'est une réalité pour quelques plantes et quelques animaux, mais seulement au laboratoire.

- Chez les plantes :

Plusieurs équipes ont annoncé avoir greffé à des plantes cultivées des gènes leur permettant de résister, soit à un insecte, soit à un herbicide.

Ainsi, les plants de tabac ont acquis la capacité de se défendre contre une chenille appelée "manduca sexta" qui dévore les feuilles. On a greffé à ces plants des gènes d'une bactérie appelée "bacillus thuringiensis". Ces gènes dirigent la fabrication de cristaux qui se dissolvent dans l'estomac de la chenille en libérant des fragments toxiques pour elle.

De même, des plants de pommes de terre et de tomates ont été rendus résistants à l'herbicide "phosphinotricine" en leur greffant le gène de résistance correspondant prélevé chez la bactérie "agrobacterium tumefaciens".

- Chez l'animal :

Le principe acquis aujourd'hui est d'introduire un gène fonctionnel dans un organe pour suppléer à un gène défectueux.

Ainsi, en 1982, chez les drosophiles aux yeux pâles, on a rétabli la couleur rouge normale de l'oeil par injection du gène normal dans des embryons de la mouche.

De même, en 1984, on a corrigé une variété de nanisme héréditaire de la souris en injectant l'hormone de croissance de rat à des oeufs de souris naines.

Dans les deux cas, on a injecté avec une micro-pipette, une petite quantité d'une solution d'ADN directement dans l'un des deux noyaux fournis par les cellules sexuelles parentales juste avant qu'ils fusionnent. La solution d'ADN contient à peu près deux cent mille copies du gène étudié.

Cette méthode ne pourra pas être transposée chez l'homme pour au moins trois raisons :

- d'abord, pour être sûr que l'oeuf sur lequel on agit possède une anomalie, il faut effectuer le diagnostic dès la fécondation, ce qui est saugrenu.

- ensuite, la méthode d'injection avec micro-pipette est peu efficace : quelques cas de réussite pour une centaine d'oeufs traités.

- enfin, la correction est mal contrôlée : les souris précédentes par exemple, de naines, sont devenues géantes, car on ne peut savoir à l'avance le nombre de copies du gène qui va s'insérer. Ce nombre variant de 0 à 50 par cellule. De plus, l'insertion des copies se fait au hasard, ce qui a pour effet d'inactiver certains gènes de la cellule hôte et de provoquer des anomalies plus ou moins graves. Ainsi, chez les souris traitées précédemment pour des raisons mal définies, les animaux se reproduisent avec difficultés, ont divers troubles de santé et vivent plutôt moins longtemps que les animaux de même type non traités.

Chez l'homme :

Pour l'instant, chez l'homme les recherches en thérapie génétique visent à traiter à partir de la naissance. Il s'agit, en utilisant comme transporteur un rétrovirus, d'introduire le gène fonctionnel dans les cellules faciles à prélever, à savoir des cellules de moelle osseuse.

Deux maladies semblent particulièrement candidates pour des essais dans un avenir proche. Il s'agit de la déficience en "Adénosine Déaminase" ou ADA et de la déficience en "Purine Nucleoside Phosphorylase" ou PNP.

Ces deux substances sont des enzymes impliquées dans la défense de l'organisme. Quand le gène contenant l'instruction pour l'enzyme est anormal ou si l'enzyme est absente, l'enfant ne peut faire face à aucune infection microbienne. Pour lui éviter une mort rapide, on doit l'isoler dès la naissance dans une enceinte stérile. C'est la femme "bulle" rendue célèbre par les médias.

Le seul traitement actuel est, soit une greffe de moelle osseuse, mais il n'y a pas assez de donneurs, soit une greffe de tissu de foie prélevé chez des foetus issus d'avortement, mais cela pose des problèmes d'éthique.

Le traitement génétique est certainement très prometteur, mais il se heurte encore à de nombreux problèmes.

La naissance des techniques de génie génétique a suscité de grands espoirs, mais aussi fait naître des craintes. La polémique a été en particulier très vive entre 1975 et 1985.

Aujourd'hui, les esprits se sont un peu calmés, d'abord parce qu'on profite des premiers bienfaits, ensuite parce qu'un code de conduite a été mis en place dans de nombreux pays.

Cela dit, il faut rester vigilant parce que ce code est observé avec plus ou moins de rigueur selon les pays. Généralement, il n'y a pas d'obligation légale de faire contrôler et approuver un projet génétique par une commission éthique et technique, ensuite, une fois l'approbation obtenue, souvent aucune disposition ne couvre une éventuelle violation des engagements pris lors de la demande d'approbation.

*

* * *

ANNEXE

Mendel naît en 1822 – la même année que Pasteur – en Moravie, alors province autrichienne. A 21 ans, il entre chez les Augustiniens et sera ordonné prêtre quatre ans plus tard.

Professeur à l'école moderne de Brno, il commence les recherches qui vont l'immortaliser et au bout de quelques années, il proposera sa solution au maintien de la variance biologique par ses expériences sur l'hybridation du petit pois.

Il est à l'origine d'une véritable révolution conceptuelle : la transmission des caractéristiques d'un être vivant à ses descendants. Il propose la division des gènes des "in-dividus" (c'est-à-dire étymologiquement des "non-divisibles").

Le croisement de 2 pois **jaunes** dont l'un des parents est **jaune** et l'autre **vert**, donne aussi bien des pois **jaunes** que des pois **verts**.

La couleur **verte** est donc présente dans des pois apparemment **jaunes**.

Mendel conclut que l'être est double :

- . celui qui grandit, respire, agit et qui est **individu**.
- . celui qui se reproduit et qui à cette occasion se **divise**.

Nous sommes en 1865, il faudra attendre 35 ans pour que l'importance de cette découverte soit reconnue. Mais de son côté, à sa mort en 1884, Mendel était certainement plus préoccupé par ses problèmes de chef de communauté religieuse avec les autorités autrichiennes...

Laissons la parole à Jean Rostand dans le chapitre "Mendel" de son ouvrage "Hommes de Vérité" (2ème volume - Stock) :

"Quand on croise des pois à graines jaunes et des pois à graines vertes, toutes les graines qui résultent du croisement sont jaunes. Le caractère "jaune" l'emporte donc complètement sur le caractère "vert" ; il le "domine". Et cela dans quelque sens qu'on ait procédé au croisement. Si maintenant on laisse reproduire librement, par auto-fécondation, les plantes issues de ces graines jaunes, le caractère "vert" masqué à la génération précédente, reparaît à celle-ci, et c'est pourquoi Mendel le qualifie de "récessif" ; en outre, il reparaît dans une proportion remarquablement constante ; on compte à peu près trois graines jaunes pour une graine verte. "

Ainsi, sur 8 023 graines produites par 258 plantes hybrides, Mendel trouve 6 022 graines jaunes et 2 001 graines vertes, soit une proportion de 3,01 pour 1.

Résumons maintenant :

J majuscule puis Jaune "dominant"
v minuscule puis vert "récessif"

a) - Croisons deux individus homogènes portant chacun le double gène "JJ" ou "vv" :

• le croisement donne des descendants "Jv"

b) - Croisons deux individus "Jv" et "Jv"

• les descendants porteront les gènes "JJ" donc seront de couleur Jaune
"Jv" donc seront de couleur Jaune
"vJ" donc seront de couleur Jaune
"vv" donc seront de couleur verte

Et voilà ce qui explique le rapport 3/1 découvert empiriquement par Mendel.

*

* * *