

Animaux génétiquement modifiés

Souris, poissons zèbres, mouches du vinaigre et vers nématodes: tous sont des animaux modèles. Les organismes modèles sont des animaux modifiés génétiquement à l'aide desquels les chercheurs apprennent du nouveau quant à l'origine des maladies.

«Pourquoi devrions-nous intervenir dans le patrimoine génétique des animaux à des fins expérimentales? Les scientifiques sont fous.» Veuillez lire ce qui suit: quelques découvertes pionnières n'auraient pas été possibles sans l'aide d'animaux génétiquement modifiés.

1. Animaux génétiquement modifiés au service de la recherche

Le génie génétique offre la possibilité de modifier de façon ciblée le patrimoine génétique des êtres vivants. Cette aptitude va être utilisée pour fabriquer dans des bactéries ou des cellules animales des médicaments tels que par exemple l'insuline humaine (cf. chapitres Cloner et Production de médicaments). Les modifications par génie génétique les plus fréquentes, que se soit dans la recherche ou dans la production de médicaments, se produisent dans les micro-organismes (bactéries, levure) ainsi que dans les cultures cellulaires. Cependant, des êtres vivants supérieurs tels que plantes ou animaux peuvent également être modifiés génétiquement de façon ciblée. Ceci a toute son importance puisque les connaissances acquises chez les micro-organismes ou les cellules ne peuvent tout simplement pas être transposées sur un organisme supérieur.

Les maladies ou les processus physiques ne peuvent souvent pas être investigués dans les cellules spécifiques. La maladie d'Alzheimer par exemple est une maladie qui ne frappe pas uniquement les cellules spécifiques mais toutes les régions du cerveau. L'origine de la maladie est complexe et les chercheurs n'ont pas seulement recours aux «cellules spécifiques d'Alzheimer » mais également aux animaux modèles tels que les souris par exemple. Celles-ci peuvent développer une maladie pas entièrement identique à la maladie d'Alzheimer de l'individu mais qui s'y apparente. A l'aide de ces souris, les chercheurs vont étudier les causes de la maladie et tester de nouveaux traitements. D'autres exemples d'animaux modèles connus sont utilisés pour des maladies telles que sclérose en plaques, diabète, chorée de Huntington ou cancer.

Durant ces dernières dizaines d'années, les scientifiques du monde entier ont choisi une série d'animaux en tant qu' «organismes modèles» dont la souris et la mouche du vinaigre (ou drosophile) entre autres (cf. la liste au sous-chapitre 2). Ils se sont mis d'accord pour se concentrer sur quelques animaux au lieu de tester des milliers d'animaux différents. Les résultats peuvent alors être comparés entre les divers organismes modèles. Si par exemple un laboratoire de recherche situé à Helsinki a acquis de nouvelles connaissances sur la souris, d'autres chercheurs travaillant sur des souris de la même souche peuvent se baser sur ces connaissances qu'ils se trouvent à Vienne, Berne ou San Francisco.

2. Qu'est-ce qui distingue un animal pour être choisi comme organisme modèle?

Qu'est-ce qui distingue un animal pour être choisi comme organisme modèle?

- a. Il doit pouvoir bien vivre en laboratoire et se reproduire. Il doit pouvoir le faire dans un cadre restreint et ne doit pas être trop exigeant en ce qui concerne la nourriture et les influences extérieures.
- b. La recherche doit avoir fait sur cet animal des expériences autres que par génie génétique.
- c. Il doit pouvoir se reproduire rapidement et en grand nombre afin de réduire la durée de l'expérience.
- d. Il doit pouvoir être bien modifié par le génie génétique.

Il est alors bien clair que l'éléphant ne remplit pas les conditions requises: 5 tonnes, des besoins alimentaires se montant à 100 kg par jour, une gestation de 22 mois rendraient difficile toute expérience. Il en est tout autre de la souris. Elle a une gestation de 3 semaines et ne pèse que 35 grammes. Il est donc logique que les chercheurs aient choisi des êtres vivants petits. Les animaux modèles les plus importants pour la recherche biologique moderne sont les suivants:

Le *Caenorhabditis elegans* [1 mm]

Ce ver nématode, *Caenorhabditis elegans*, vivant dans la terre mesure un millimètre et a une durée de vie de 20 jours. La durée de son développement étant courte et le nombre de ses cellules étant faible (le ver est constitué de 959 cellules) font de lui un organisme modèle très apprécié. De plus, ce ver est transparent ce qui permet une observation microscopique facilitée des cellules isolées et des organes de l'animal vivant.

La mouche du vinaigre (*Drosophila melanogaster*, *drosophile*) [3 mm]

La mouche du vinaigre ou drosophile est depuis bientôt 100 ans un animal de laboratoire apprécié des généticiens: les drosophiles sont petites, faciles à cultiver, elles passent d'oeuf à mouche en 10 jours et se reproduisent rapidement. Initialement, elles furent utilisées dans la découverte des lois de l'hérédité et durant les 40 dernières années, elles furent avant tout au service de l'étude d'une des questions prédominantes en biologie: «Comment un organisme complet peut-il être issu d'une cellule unique?» Les défauts génétiques induisant des troubles dans le développement ont permis de repérer les gènes qui contrôlent ces procédés. Grâce au décryptage du patrimoine génétique de la drosophile et de l'être humain, on découvrit que le développement de la drosophile et de l'être humain sont dirigés par des gènes très similaires.

Le poisson zèbre (*Danio rerio*) [4 cm]

Pourquoi les chercheurs ont-ils opté pour les poissons zèbres? Ils sont légers, on peut les garder en grand nombre et ils se reproduisent rapidement. Leur développement rapide va permettre de signaler les modifications de leur patrimoine génétique en l'espace de peu de temps. Un jour après la fécondation, tous les organes essentiels sont déjà mis en place et la larve sort deux jours plus tard. En outre, les descendants sont transparents à quelques détails près de telle sorte que les différentes étapes de leur développement peuvent être observées sans grand investissement. Tous les vertébrés, l'être humain inclus, ont de nombreux points communs et les connaissances acquises grâce au poisson zèbre peuvent souvent être transférées à l'être humain.

La souris commune (*Mus musculus*) [10 cm]

Les souris blanches typiques également appelées souris de laboratoire sont apparentées aux souris domestiques. Leur corps est long de 7 à 11 cm auquel vient s'ajouter une queue de 7 à 10 cm. Les souris de laboratoire pèsent de 30 à 45 grammes. Elles ont jusqu'à huit portées par année de 3 à 8 petits. Elles atteignent leur maturité sexuelle après 4 à 6 semaines et elles peuvent vivre deux ans. Une souris peut donc avoir 150 descendants. Les souris sont donc des animaux de laboratoire idéaux. La souris commune fut élevée à des fins expérimentales dans diverses lignées ayant chaque fois des caractéristiques différentes. C'est ainsi que la lignée «NMRI» se prête particulièrement bien aux analyses biologiques de comportement, d'autres le sont pour la formation particulièrement précoce des tumeurs et seront donc utilisées dans la recherche contre le cancer, et d'autres encore pour tester des médicaments comme par exemple contre les crises d'épilepsie.

Naturellement, chaque organisme modèle permet d'étudier un détail particulier. Et plus un être vivant est proche d'un autre, mieux les résultats des expériences pourront être transférés. C'est ainsi que les nouvelles connaissances résultant d'expériences faites sur des souris seront plus facilement transférables sur l'être humain que celles faites sur les mouches. Finalement, l'être humain et la souris sont tous deux des mammifères et 99% de l'ensemble des gènes de la souris se retrouvent sous une forme identique chez l'être humain.

Mais les animaux modèles les plus précieux sont ceux qui servent à l'exploration des maladies de l'individu. Le tableau suivant montre que, pour diverses maladies graves, on dispose de modèles animaux dans différents organismes modèles parce que les organismes modèles et les individus ont souvent les mêmes gènes.

Tabelle 10.2 Krankheitsmodelle in Modellorganismen

Krankheiten und Mutationen	Krankheitsmodelle in Modellorganismen			
	Maus	Zebrafisch	Fliege	Wurm
Krebs				
Darmkrebs (APC)	*	+	*	*
Brustkrebs (BRCA1/2)	*	+		*
Augenkrebs (RB1)	*	+	*	*
Hautkrebs (XPD)	*	+	+	*
Neurologische Krankheiten				
Demenz Typ Alzheimer (PS1)	*	+	*	*
Jakob-Creutzfeld Erkrankungen	*	+		
Muskelschwund Typ Duchenne	*	*	+	*
Parkinson Krankheit (PARK2)	*	+	*	+
Herz-Kreislaufleiden				
Herzmuskelerkrankung (MYH7)	+	+	+	+
Stoffwechselleiden				
Diabetes Typ 2 (INSR)	*	+	*	*
Fettleibigkeit (LEP)	*	+		
Blutkrankheiten				
beta-Thalassemie (HBB)	+	*		
Haemochromatose	+	*		
Immunerkrankungen				
Immunschwäche SCID (IL2RG)	+	+		
Andere				
Cystische Fibrose (ABCC7)	*	+	+	+

- + gleiches Gen vorhanden
- * gleiches Gen vorhanden und Krankheitsmodell etabliert

Tableau 10.2: Types de maladie dans les organismes modèles
 Source : Science (2004) 287, 2204-2215 et OMIM
 (Mendelian Inheritance in Man).

3. C'est plus rapide avec le génie génétique

Comment une souris normale peut-elle devenir une souris atteinte de myoatrophie? Pour ce faire, il est important de connaître l'origine de la maladie. Dans le cas de la myodystrophie de Duchenne, maladie héréditaire conduisant dans les plus jeunes années déjà à une atrophie des muscles, le gène dystrophine fait défaut sur le chromosome X. Ce gène joue un rôle important dans la formation des protéines musculaires. L'être humain ainsi que la souris possèdent tous deux le gène dystrophine.

Il existe différentes méthodes pour élever des souris atteintes de myoatrophie. Les souris pourraient se reproduire et l'ensemble de leur descendance pourrait être examiné à fond. Un jour ou l'autre, peut-être au bout de plusieurs années, on trouverait une souris atteinte de myoatrophie. Il faudrait ensuite analyser le patrimoine génétique de cette souris et clarifier si le gène dystrophine est effectivement concerné. Nous aurions ainsi une souris pouvant servir de modèle pour la maladie de Duchenne. Mais l'investissement

serait énorme et il faudrait vraisemblablement élever des milliers de souris pour déceler une souris atteinte de myoatrophie.

Il existe une variante plus efficace en modifiant de façon ciblée le patrimoine génétique de la souris à l'aide du génie génétique: soit par l'inactivation des gènes existants soit en introduisant l'ADN dans les cellules. Cette modification du gène serait ensuite héréditaire. De tels animaux sont appelés transgéniques (illustration 10.1). Il existe fondamentalement deux méthodes différentes pouvant être utilisées sur tous les animaux modèles:

Premièrement, on va inactiver un gène sélectionné. Une telle modification est désignée par «knock-out». Dans notre cas, le gène dystrophine serait inactivé.

Deuxièmement, on va modifier un gène connu puis l'introduire dans le génome de la souris modèle («knock-in»).

Le prix Nobel de médecine 2007: l'astuce des souris knock-out / knock-in

Le prix Nobel de médecine 2007 a été attribué à l'Américain Martin Evans, à l'Italo-Américain Mario Capecchi et au Britannique Sir Oliver Smithies. Leurs travaux de pionniers remontent déjà à plus de 20 ans. Martin Evans fut le premier à extraire des cellules souches embryonnaires d'embryons de souris et à les multiplier dans des boîtes de Petri. Il a modifié par génie génétique les cellules souches de telle sorte qu'il put cultiver diverses lignées de souris en incluant ou excluant à chaque fois des gènes de façon ciblée. La production de souris knock-out et knock-in était à l'époque un défi énorme que réussirent également, par voies différentes, les deux autres chercheurs Mario Capucci et Oliver Smithies. Ce dernier fut anobli par la Reine pour ses mérites dès 2001.

4. Comment modifie-t-on le génome?

Différentes méthodes furent développées pour introduire l'ADN dans le génome dont voici deux exemples:

- a. A l'aide de «canons à gènes», des billes seront introduites dans les cellules sur la surface desquelles sont collées les séquences d'ADN.
- b. Des virus renfermant le fragment d'ADN désiré contaminent les cellules.

Comment élever un animal knock-out? Prenons l'exemple de la souris. La séquence d'un gène sélectionné (par ex. le gène dystrophine) sera transférée dans les cellules souches embryonnaires d'une souris. La séquence du gène a été modifiée au préalable de telle sorte que la protéine correspondante ne puisse agir normalement. Après avoir introduit dans le chromosome de l'animal le gène défectueux, celui-ci va se fixer au gène correspondant sain puisqu'il s'agit presque de la même séquence génique. Après l'échange des séquences, le gène sain va donc muter en gène défectueux. Les cellules souches ainsi modifiées seront injectées dans un embryon précoce de souris qui sera ensuite transféré sur une souris-nourrice. Les souris vont se reproduire et permettront de constater si le gène knock-out a été transmis.

De telles souris knock-out ont permis de faire sensiblement progresser la recherche comme par exemple pour une des maladies héréditaires les plus fréquentes, la fibrose kystique (FC). Un enfant sur 2'000 environ est atteint de FC, maladie provenant d'un dysfonctionnement de la régulation du métabolisme salin des muqueuses. Les enfants vont alors produire de grandes quantités de mucosité dans les poumons ce qui va

conduire à des difficultés respiratoires ainsi qu'à de fréquentes infections. Il n'existe à ce jour pas de guérison possible. Mais grâce aux souris FC knock-out, les connaissances relatives à cette maladie sont plus grandes; les souris permettent de tester des traitements éventuels.

Cependant, l'étude sur les souris knock-out a également des limites: de nombreuses maladies de l'être humain ne sont pas dues aux modifications d'un seul gène mais à l'ensemble de plusieurs gènes défectueux. Cela complique considérablement l'analyse des différentes maladies. C'est pourquoi les opposants aux expérimentations animales attirent l'attention sur l'impact limité des expériences sur les animaux transgéniques. Les experts prétendent par contre que la bonne transmissibilité dépend de l'agencement correct de l'expérience.

5. Des souris knock-out pour comprendre les gènes

Les animaux knock-out permettent non seulement d'étudier une maladie concrète mais également de répondre à la question fondamentale suivante: à quoi sert le gène dans l'organisme? L'idée est simple: si un gène est déficient à l'intérieur d'un organisme (entraînant ainsi la protéine correspondante), cela signifie qu'il y a un certain dysfonctionnement. Lorsque par exemple le gène de l'insuline est défectueux, le métabolisme du glucose n'est plus correctement contrôlable dans l'organisme. Lorsque le gène de croissance est inactivé dans une mouche, il y aura alors formation de mini-mouches. En d'autres termes: en inactivant des gènes de façon ciblée, on peut conclure à la fonction normale du gène. L'avantage des souris knock-out réside dans le fait que l'incidence du gène peut être observée sur un animal vivant.

Contrairement aux animaux knock-out, le but est différent lors de la production d'animaux à séquence héréditaire étrangère additionnelle (animaux knock-in). L'animal a reçu des aptitudes supplémentaires. La première souris qui fut connue mondialement est celle dans laquelle fut introduit un gène humain du cancer dans les laboratoires de la «Harvard Medical School» (institution de recherche réputée de Boston) et elle a ainsi permis d'analyser l'évolution du cancer ainsi que les traitements éventuels sur des animaux modèles. Depuis, de nouvelles générations de souris atteintes de cancer sont à la disposition de la recherche en tant que modèle de maladie.

Selon la loi sur la protection des animaux en vigueur en Suisse, une autorisation est nécessaire lors de modification sur les vertébrés par génie génétique ou de leur utilisation dans l'expérimentation animale. Une autorisation est donc nécessaire pour les poissons et les souris, animaux modèles mentionnés plus haut. Par contre, elle n'est pas nécessaire pour le nématode et la drosophile puisqu'ils n'appartiennent pas aux vertébrés. Le nombre d'expérimentations animales sur des animaux transgéniques ne cesse de croître depuis 1992. En 2004, on a compté 466 expériences de ce genre. Parallèlement, le nombre d'animaux utilisés dans de tels projets a augmenté durant ces dernières années. En 2004, on a compté 81'000 animaux, des souris pour la plupart mais également des rats. Entre 1997 et 2004, on détenait 4'200 lignées différentes de souris génétiquement modifiées ainsi que quelques lignées de rats, de lapins et de poissons. Les expérimentations animales effectuées sur des animaux transgéniques sont en augmentation ces dernières années et cette évolution souligne leur importance pour la recherche.

Animaux génétiquement modifiés pour une utilisation médicale

Les animaux génétiquement modifiés ne sont pas élevés uniquement pour la recherche fondamentale. Il y a toute une série d'applications qui sont actuellement en cours de développement ou qui ont déjà été testées, la plupart du temps du reste avec des résultats mitigés. Voici quelques exemples éminents:

Xéno-transplantation

De nombreux individus doivent attendre très longtemps le nouvel organe dont ils ont besoin, d'autres meurent parce que l'on n'a pas pu trouver à temps l'organe approprié. La recherche est en quête d'alternatives. L'utilisation d'organes animaux, également appelée xéno-transplantation, en est une parmi d'autres. Normalement, les organes animaux sont immédiatement rejetés par l'organisme humain et de ce fait ne peuvent pas être transplantés. Si l'on réussissait à modifier la génétique des animaux de telle sorte que l'organisme humain ne considère plus ces organes comme étrangers, on pourrait éviter ces réactions de rejet ou du moins les contrôler. Au centre de ce projet se trouve le porc car le rein de cet animal est, de par sa grandeur et sa structure, idéal pour une transplantation sur l'individu. Jusqu'à présent, l'élevage de tels animaux n'a pas réussi. Mais les recherches actuelles vont permettre d'expérimenter des organes de porcs génétiquement modifiés sur des singes. La possibilité de produire un jour des organes pour l'être humain à l'aide de la xéno-transplantation paraît actuellement incertaine.

Gene Pharming

Le fait que l'on puisse traire des souris n'est pas une plaisanterie pour bien des chercheurs. En effet, pour la première fois en 1987, des souris produisirent le facteur de croissance humain t-PA contenu en concentrations élevées dans leur lait. Ce processus a pu être engagé par le fait qu'une sorte d'interrupteur (promoteur) de la protéine lactosérique a été placé devant le gène correspondant. Ce promoteur va permettre au gène de n'être actif que dans les glandes lactiques et non dans tout autre endroit de l'organisme. Ce mode de production de médicaments est appelé gene pharming. En été 2006, une substance active provenant d'une chèvre transgénique a été admise pour la première fois en Europe. Il s'agit de l'antithrombine humaine qui est appliquée lors de déficience héréditaire en antithrombine. La substance active empêche la formation de caillots.

6. Aspects éthiques: manipulation responsable des animaux transgéniques

Est-ce que la modification génétique des animaux est permise ou bien est-ce une intervention illicite dans la nature? Peut-on élever des animaux pour fournir des organes aux êtres humains? Où se trouve la différence entre modification par génie génétique et élevage?

La modification génétique des animaux est perçue par certains citoyens comme étant une manipulation injustifiée dans la nature même de l'animal. En réalité, une mutation génétique n'est guère une «modification de la nature» de l'animal selon le professeur d'éthique Alberto Bondolfi. En fait, la nature de l'animal ne se trouve pas dans un seul gène. Il s'agit d'une erreur d'interprétation qui a empêché l'avance des recherches dans le domaine des mutations géniques.

La mutation n'a qu'une faible influence sur la nature de l'animal, il en est autrement de son bien-être. Certaines mutations seraient en fait insignifiantes quant au bien-être de

l'animal. D'autres par contre pourraient le gêner fortement et dans certains cas, il lui serait impossible d'exister en respectant son rythme biologique. Les commissions d'éthique doivent donc décider de quelle manière le bien-être est entravé par la manipulation et comment l'expérience doit être classée.

Mais il ne faut peut-être pas non plus oublier ce qui suit: l'élevage de races de chiens présente également une manipulation dans le génome de l'animal puisque les gènes seront de ce fait recombinaisonnés pour tenter de mettre en valeur certaines de ses caractéristiques. Une manipulation responsable n'est pas seulement nécessaire pour les animaux transgéniques mais également pour les animaux issus de méthodes d'élevage traditionnelles.

En Suisse, lors de l'initiative pour la protection génétique, il y eut de nombreux débats quant aux avantages et aux inconvénients des animaux transgéniques, l'initiative voulant interdire la production de tels animaux. Les deux tiers des citoyens votant se prononcèrent pourtant en faveur de l'utilisation des animaux transgéniques dans la recherche biologique et médicale.

Pour en savoir plus: biotechlerncenter.interpharma.ch