

Une biologie pour le Développement

□ □
François Gros

**UNE BIOLOGIE
POUR LE DÉVELOPPEMENT**

UNE BIOLOGIE POUR LE DÉVELOPPEMENT

François Gros

Préface de Jean-Michel Roy



17, avenue du Hoggar
Parc d'Activité de Courtabœuf, BP 112
91944 Les Ulis Cedex A, France

Imprimé en France

ISBN: 978-2-7598-0366-8

Tous droits de traduction, d'adaptation et de reproduction par tous procédés, réservés pour tous pays. La loi du 11 mars 1957 n'autorisant, aux termes des alinéas 2 et 3 de l'article 41, d'une part, que les " copies ou reproductions strictement réservées à l'usage privé du copiste et non destinées à une utilisation collective ", et d'autre part, que les analyses et les courtes citations dans un but d'exemple et d'illustration, " toute représentation intégrale, ou partielle, faite sans le consentement de l'auteur ou de ses ayants droit ou ayants cause est illicite " (alinéa 1er de l'article 40). Cette représentation ou reproduction, par quelque procédé que ce soit, constituerait donc une contrefaçon sanctionnée par les articles 425 et suivants du code pénal.

© EDP Sciences 2009

SOMMAIRE

PRÉFACE	11
INTRODUCTION GÉNÉRALE	21
I. LE FABULEUX DESTIN DE LA BIOLOGIE	
I.1. APERÇUS HISTORIQUES	27
I.1.1. La vision des anciens	27
I.1.2. L'épopée naturaliste et la physiologie expérimentale	29
I.1.3. À la recherche d'un formalisme unificateur du vivant (enzyme, métabolismes, bio-énergétique)	33
I.2. LA BIOLOGIE MOLÉCULAIRE ET SES RÉALISATIONS	
I.2.1. La biologie moléculaire du gène (double hélice, expression et régulation génétiques, le « dogme central »)	37
• <i>ADN et double hélice</i>	37
• <i>Fonction des gènes et régulation (premiers concepts)</i> ...	40
I.2.2. Le code génétique – Le transfert de l'information génétique : transcription et traduction du code génétique	42
• <i>L'ARN messenger et le code génétique</i>	44
• <i>Synthèse des protéines</i>	45
I.2.3. Régulation des gènes – Le répresseur – L'opéron lactose.....	47
I.2.4. Le dogme central de la Biologie moléculaire	49
I.3. GÉNIE GÉNÉTIQUE – CONSÉQUENCES À CARACTÈRE FONDAMENTAL – APPLICATIONS.....	51
I.3.1. Génie génétique – Découverte – Biologie des organismes supérieurs	51
I.3.2. Exons-Introns	53
I.3.3. Épissage	54
I.3.4. Ribozymes et monde des ARN	56
I.4. LA COMPLEXITÉ DU MATÉRIEL GÉNÉTIQUE CHEZ LES ORGANISMES « EUCARYOTIQUES »	59
I.4.1. Compaction de la chromatine – Nucléosomes	59
I.4.2. Modifications épigénétiques.....	60
I.4.3. Régulation positive – Promoteurs – Séquences cis-régulatrices	60

I.4.4. ADN codant et non codant	62
I.4.5. Éléments répétitifs.....	63
I.5. GÉNOMIQUE – DONNÉES GÉNÉRALES – CONSÉQUENCES – APPLICATIONS.....	65
I.5.1. Génomique structurale et fonctionnelle	66
● <i>Les « surprises » de la génomique – Le nombre des gènes</i>	67
I.5.2. Polymorphisme génétique – Les SNP	69
I.5.3. Une Biologie des « Ensembles moléculaires » : transcriptomes – protéomes.....	70
● <i>Transcriptomes – Puces à ADN</i>	71
● <i>Protéomes</i>	72
● <i>Interaction des protéines</i>	73
● <i>Du génome au phénomène !</i>	75
I.5.4. Qu'est-ce qu'un gène ? La biologie des systèmes	76
I.6. UN SOUFFLE NOUVEAU EN BIOLOGIE MOLÉCULAIRE – LE MONDE DES ARN ET LES PHÉNOMÈNES D'INTERFÉRENCE – RETOUR EN FORCE SUR L'ÉPIGÉNÉTIQUE	79
I.6.1. Le monde des ARN.....	79
I.6.2. Si-ARN et micro ARN	80
● <i>Formation – Transport et appariements des micro-ARN (Drosha, Exportine, Dicer et Risc)</i>	81
● <i>Applications</i>	83
I.6.3. Retour en force sur l'épigénétique – Quand l'hétérodoxie devient symbole d'ouverture.....	84
● <i>Méthylation de l'ADN</i>	85
● <i>Répression transcriptionnelle des transposons</i>	86
● <i>Empreintes parentales</i>	87
● <i>Inactivation du chromosome X</i>	87
● <i>Modifications des histones et rôle des variants d'histones dans le contrôle épigénétique</i>	88
I.7. DE LA BIOLOGIE CONTEMPORAINE AUX DÉFIS DU DÉVELOPPEMENT.....	93
I.7.1. Réflexions sur la biologie contemporaine.....	93
I.7.2. Que peuvent les sciences pour un développement durable ? Le rôle de la biologie	95
I.7.3. Santé.....	96
I.7.4. Agriculture	97
I.7.5. Environnement-Biodiversité – Évolution	98
I.7.6. Remarques générales.....	100

II. LA BIOLOGIE ET LES GRANDS DÉFIS DU DÉVELOPPEMENT

II.1. SANTÉ	103
II.1.1. Maladies infectieuses (renouveau de la microbiologie, vaccins, diagnostics et thérapeutiques anti-virales, zoonoses, maladies à prions)	103
II.1.1.1. Le retour des maladies infectieuses – Les maladies de la pauvreté – Maladies tropicales négligées.....	103
II.1.1.2. La microbiologie et son renouveau.....	105
● <i>Considérations générales</i>	105
● <i>Les facteurs d'un renouveau en microbiologie</i>	106
● <i>Génomique et virulence</i>	107
● <i>Les cellules cibles et les mécanismes de pénétration des bactéries pathogènes</i>	108
● <i>Gènes de susceptibilité</i>	110
● <i>Environnement et réservoirs d'agents pathogènes</i>	110
II.1.1.3. Vaccinologie	112
● <i>Aperçus historiques et généralités</i>	112
● <i>Divers types de vaccins</i>	113
● <i>Les défis posés par le SIDA, le paludisme et la tuberculose</i>	115
II.1.1.4. Les zoonoses.....	116
● <i>SIDA (les virus HIV)</i>	117
● <i>SRAS</i>	118
● <i>Ebola</i>	119
● <i>Chikungunya</i>	119
● <i>Grippe aviaire</i>	119
● <i>Marburg, West-Nile</i>	120
● <i>Recherches récentes</i>	120
II.1.1.5. Diagnostics et thérapies des maladies virales – Un aperçu.....	122
● <i>Thérapies antivirales</i>	123
II.1.1.6. Les maladies à prions.....	125
● <i>La protéine « prion » PrPsc</i>	125
● <i>Maladies à prions</i>	127
II.1.2 Maladies génétiques – Thérapie génique.....	131
II.1.2.1. Historique	131
II.1.2.2. L'exemple de la myopathie de Duchenne (DMD) – Un cas d'école.....	133
II.1.2.3. Les affections neurologiques.....	134
II.1.2.4. Gènes de susceptibilité – Polymorphismes et maladies – Gènes du système HLA.....	136
● <i>Système HLA et prédispositions aux maladies</i>	136
● <i>Gènes de susceptibilité et polymorphismes type SNP</i>	137

II.1.2.5. Thérapie génique – Le gène médicament et la chirurgie du gène	138
● <i>Travaux d'A. Fischer et M. Cavazzana Calvo</i>	139
● <i>La stratégie du « saut d'exon »</i>	140
II.1.2.6. Maladies et malformations congénitales de l'enfant	141
II.1.3. Cellules souches et thérapie cellulaire (un espoir pour les maladies dégénératives).....	142
II.1.3.1. Considérations sur la biologie du développement	142
II.1.3.2. Cellules souches adultes	144
● <i>Cellules souches sanguines</i>	144
● <i>Autres types de cellules souches adultes</i>	146
● <i>Cellules souches neurales</i>	146
● <i>Plasticité des cellules souches adultes</i>	147
II.1.3.3. Cellules souches embryonnaires	148
● <i>Historique</i>	148
● <i>Découverte des cellules souches embryonnaires humaines et applications potentielles</i>	149
● <i>Risques</i>	151
● <i>Transfert nucléaire somatique (clonage thérapeutique) – clonage reproductif chez l'animal</i>	151
II.1.3.4. Aspects éthiques dans l'utilisation des cellules souches embryonnaires	153
II.1.4. Vieillesse – Sénescence et mort cellulaire (Apoptose) – Cancers	154
II.1.4.1. Vieillesse – Considérations générales	154
II.1.4.2. Génétique et longévité.....	156
● <i>Relations entre génomique et longévité dans l'espèce humaine</i>	159
● <i>Sur les causes du vieillissement physiologique</i>	160
● <i>Vieillesse moléculaire – Effets des radicaux libres</i>	161
II.1.4.3. Sénescence cellulaire	162
II.1.4.4. Apoptose – Mort cellulaire programmée.....	162
II.1.4.5. Apoptose et cancers	165
II.1.4.6. Mécanismes moléculaires de l'apoptose	167
II.1.4.7. Cancers.....	170
● <i>Données épidémiologiques</i>	170
● <i>Cancers dans le monde et leur incidence grandissante dans les pays en développement</i>	170
● <i>Biologie du cancer – Oncogènes – Gènes suppresseurs – Systèmes de réparation</i>	173
● <i>Gènes sentinelles</i>	175
● <i>Systèmes de réparation et cancers</i>	176

• <i>Facteurs épigénétiques</i>	177
• <i>Contrôle épigénétique du développement des cellules souches cancéreuses</i>	178
II.2. AGRICULTURE – NUTRITION – NOURRIR LES HOMMES – LES DÉFIS DE LA MALNUTRITION – PLANTES TRANSGÉNIQUES (DONNÉES, ESPOIRS ET CRAINTES)	181
II.2.1. Nourrir la communauté des hommes – Les données du problème et les défis à relever	181
II.2.1.2. Une crise alimentaire mondiale – Le « retour de la faim » ..	185
II.2.2. Apports de la génomique	187
II.2.3. Les plantes transgéniques – Quelques données générales	188
• <i>Principaux types de modifications introduites par transgénèse végétale à des fins agricoles</i>	190
• <i>Sécheresse et salinité</i>	190
• <i>Autres caractéristiques</i>	192
• <i>Physiologie globale – Qualité nutritive</i>	195
• <i>Transgénèse végétale et santé</i>	196
• <i>Espoirs – Réserves – Risques potentiels</i>	197
II.2.4. L'élevage composante majeure de l'alimentation humaine – Perspectives et effets sur l'environnement	201
• <i>Recherche</i>	202
• <i>Environnement</i>	204
II.3. ENVIRONNEMENT – ÉNERGIES – BIODIVERSITÉ	207
II.3.1. Défis énergétiques – Effets de serre – Énergies renouvelables Biocarburants	207
II.3.1.1. Défis énergétiques – Changements climatiques	207
II.3.1.2. Énergies non émettrices de CO ₂	209
II.3.1.3. Énergies renouvelables	210
• <i>Photovoltaïque</i>	210
• <i>Biomasse</i>	211
• <i>« Carburant contre aliment » (fuel versus food)</i>	211
• <i>Biocarburants de deuxième génération</i>	212
II.3.2. Biodiversité	213
II.3.2.1. Connaissance et protection de la biodiversité	213
II.3.2.1.1. Données générales – Menaces et préoccupations pour un patrimoine commun	213
• <i>Les effets du réchauffement climatique</i>	214
• <i>Urbanisation, déforestation, agriculture extensive</i>	215
• <i>Prises de position et mesures internationales</i>	215
II.3.2.1.2. La variété des espèces vivantes – Une exploration inachevée	216

II.3.2.1.3. Relations phylogénétiques – Comparaisons géno- miques.....	218
● <i>Les Archaeas – L'apparition des eucaryotes</i>	219
II.3.2.1.4. Génomique et biodiversité végétale.....	221
II.3.2.1.5. Génomique et biodiversité animale	222
II.3.2.1.6. Biodiversité des microorganismes – Métagénomique..	223
III. CONCLUSION.....	227
BIBLIOGRAPHIE.....	231

PRÉFACE

La progression de la science suit un rythme varié. À des moments de stagnation, voire de revers, succèdent des phases d'embellie où de vieux obstacles paraissent s'effacer comme par magie, libérant soudain à la curiosité du chercheur des espaces nouveaux vers lesquels il s'élanche avec fébrilité. Mais ces périodes d'ardente prospection sont marquées du sceau d'une certaine confusion : l'attention se disperse dans les différentes directions de l'étendue qui s'est révélée, les résultats s'accumulent dans une relative incohérence, les explications discordantes de mêmes faits se multiplient, la divergence des prédictions s'intensifie. Aussi sont-elles également des périodes où la nécessité se fait vive de dresser des bilans réguliers qui permettent de prendre la mesure exacte des progrès accomplis. La communauté scientifique ressent avec force le besoin de comprendre de quelle manière au juste elle est arrivée là, de recenser avec précision les possibilités qui se sont réellement ouvertes à elle, d'établir un inventaire des produits de ses multiples explorations, d'évaluer avec rigueur les promesses de retombées techniques qu'ils autorisent, et de prendre toute la mesure des difficultés de divers ordres qu'il reste à surmonter pour conquérir le nouveau monde du savoir qui est en train d'émerger. Et il ne s'agit là en aucune façon d'une tâche annexe, qui serait en quelque sorte secondaire par rapport au processus de la découverte scientifique. Elle en est au contraire un moment même, qui plus est essentiel, parce qu'il sert à le clarifier et à le guider, et donc à lui permettre de prolonger son élan sur des bases afferemies. Dessiner la carte d'une discipline en train de se transformer est encore œuvrer à cette transformation.

Or la biologie, entendue au sens large de l'ensemble des sciences qui prennent le vivant pour objet, est sans aucun doute un des principaux champs scientifiques à être entré depuis le milieu du siècle dernier dans une telle phase d'accélération, illustrée en particulier par la révolution de la biologie moléculaire, qui a permis de pénétrer au plus profond des fondements du vivant en mettant en lumière certains des principes de fonctionnement et des structures

les plus élémentaires de la cellule. Et que la formidable impulsion que la science du vivant a ainsi reçue ait gardé toute sa force aujourd'hui, c'est ce dont témoigne sans conteste le flux incessant, qui émane de ses laboratoires, de résultats suffisamment décisifs pour trouver un écho presque quotidien dans la presse générale, suscitant dans la société un mélange d'admiration et d'effroi devant les perspectives nouvelles qu'ils ouvrent à l'humanité. Un seul exemple, mais particulièrement saisissant, suffit à se persuader de cette vitalité : des chercheurs viennent de recevoir en Grande-Bretagne, aux fins de mieux comprendre les cellules souches embryonnaires, l'autorisation de créer par clonage des embryons au statut indéterminé, puisque résultant de l'insertion dans un ovocyte animal d'un noyau de cellule somatique adulte humaine, et donc d'un patrimoine génétique humain. En se mettant en mesure de bouleverser ainsi l'une des divisions les plus fondamentales de l'ordonnement des organismes qu'a façonné l'évolution, l'exploration scientifique du vivant ne peut donner meilleure preuve qu'elle a bel et bien franchi la frontière d'un nouveau territoire dont les limites restent aujourd'hui inassignables.

Si la biologie est donc sans conteste l'un de ces champs scientifiques où la nécessité de prendre la mesure exacte de son avancement se fait aujourd'hui sentir de manière la plus pressante, nul n'est à l'évidence plus à même de s'atteler à cette tâche ardue que le biologiste, du moins celui qui est en mesure d'en embrasser avec suffisamment d'envergure l'ampleur et d'en dominer les principales assises théoriques.

C'est précisément à une telle tâche que s'attaque dans cet ouvrage un généticien de renom, en privilégiant tout à la fois la question particulière de l'apport de cet essor sans précédent de la biologie à la résolution des nombreux défis soulevés par le développement des sociétés contemporaines, et la perspective de la génétique qui est son champ d'expertise. Peu sans doute sont mieux qualifiés que lui pour cette entreprise. Non seulement, en effet, François Gros fut un acteur clef de la révolution de la biologie moléculaire par ses travaux sur les ARN messagers notamment, mais il en est aussi l'un des analystes et des historiens les plus accomplis. Des *Secrets du gène* (1969) à ses *Mémoires scientifiques* (2003), en passant par *La civilisation du gène* (1989) ou *Regards sur la biologie contemporaine* (1983), il n'a eu de cesse de mettre en pleine lumière la signification théorique, de même que les implications sociétales, du bouleversement de la connaissance biologique dont il fut à la fois un des agents et un des témoins de premier plan aux côtés de Jacques Monod et de François Jacob. Presque trente ans après le rapport qu'il avait rédigé pour la présidence de la République avec ce dernier et Pierre Royer sur « les conséquences que les découvertes de la biologie moderne sont susceptibles d'entraîner sur l'organisation et le fonctionnement de la société » (*Sciences de*

la vie et société, 1989), il nous livre ici ses dernières analyses sur la manière dont les plus récentes avancées de l'investigation biologique peuvent, et dans quelles limites, se traduire en progrès significatifs sur le plan de la protection de la santé, de la production de nourriture et de l'approvisionnement en énergie, trois secteurs essentiels du développement social. Plus encore, en rappelant au préalable les principaux épisodes de la formidable percée scientifique d'où ces avancées sont issues, il donne à voir avec une clarté particulière le lien qui unit les tâtonnements de la recherche fondamentale aux applications ultérieures qu'elle rend possibles, la façon dont la première fait surgir un potentiel aux limites incertaines dont les secondes, parfois d'une manière imprévisible qui rend plus fabuleuses encore les lointaines découvertes qui en sont la source, dégagent peu à peu les contours effectifs.

L'intérêt des réflexions que nous propose dans les pages qui suivent François Gros ne concerne cependant pas seulement le problème de l'état réel de notre savoir biologique, mais bien entendu aussi la question même du développement et des moyens de la résoudre. Et de ce point de vue, leur intérêt apparaît plus vif encore quand on les lit à la lumière des nouveaux rapports que cette question a commencé de nouer avec la connaissance scientifique.

Car ces rapports ont changé. La société ne demande plus seulement à la science qu'elle l'aide à se développer, mais qu'elle l'aide à se développer autrement. Elle n'attend plus seulement d'elle un surcroît de développement, mais un autre mode de développement. Et lui confère par là un rôle plus essentiel que jamais dans la quête d'un avenir meilleur, qui alourdit d'autant la responsabilité des scientifiques. Pour bien apprécier le poids de ce nouveau fardeau, il est indispensable de faire retour sur la relation étroite qui unit depuis toujours le développement à la science, et la crise sans doute sans précédent dans laquelle cette relation a sombré au cours du dernier quart du xx^e siècle.

Mais de quoi parle-t-on au juste tout d'abord quand on évoque le développement des sociétés ? Si celui-ci se trouve désormais reconnu comme l'objet d'étude spécifique de cette discipline que l'on appelle la théorie du développement, s'il dispose de ses centres de recherche, de ses filières de formation ainsi que d'une myriade d'institutions nationales et internationales à finalité plus pratique, il reste cependant rarement défini. Or, même si elle désigne manifestement à travers tous ses emplois un processus de transformation, la notion de développement n'est pas univoque et la signification qu'elle possède quand on l'applique aux sociétés est relativement singulière. Il est notamment insuffisant d'en faire dans ce contexte un simple synonyme de celle d'accroissement. Car si une population qui augmente est certes une population qui

en un certain sens du terme se développe, cet accroissement est pourtant fréquemment un facteur de sous-développement. Pareillement, un système de transports qui serait parfaitement identique à un autre en termes de points géographiques reliés, de nombre de véhicules en circulation et de quantité de personnes transportées, mais beaucoup plus avantageux en consommation d'énergie et en émissions toxiques, serait clairement considéré comme plus développé que le second par la théorie du développement. La notion sur laquelle celle-ci repose est donc aussi, et même en premier lieu, qualitative. Il semble raisonnable de proposer que, à son niveau le plus général, elle désigne le processus d'amélioration par une société de sa capacité moyenne à satisfaire les besoins et les désirs de sa population et, par voie de conséquence, qu'une différence de degré de développement correspond à une différence d'état d'une telle capacité.

Cette définition se recommande notamment par son aptitude, en parlant de capacité moyenne, à accommoder le fait qu'une société considérée comme ayant atteint un certain degré de développement puisse en réalité présenter des différences importantes dans ses capacités à satisfaire les différents besoins de sa population, par exemple ceux de la santé et ceux du transport. Elle confère aussi à l'idée de développement un caractère relatif bienvenu sans verser dans le relativisme : si le degré de supériorité d'une capacité à satisfaire un besoin par rapport à une autre se laisse en effet largement déterminer au moyen de critères objectifs, il n'en reste pas moins que ce qui apparaît comme développé à un certain stade est destiné à apparaître comme sous-développé à un autre, sauf à ce que toute amélioration soit en fait impossible. Plus encore, elle laisse parfaitement ouverte la possibilité que telle ou telle technique ancestrale, par exemple dans le domaine agricole, doive être estimée de qualité supérieure à une technique moderne dès lors que l'on inclut un critère d'impact écologique, et qu'elle représente de ce fait un plus haut degré de développement qu'elle. Enfin, une telle façon de concevoir l'idée de développement paraît apte à saisir sa spécificité humaine. Car il est patent que les sociétés animales, au sens de la théorie du développement, ne se développent pas. Seules celles des hommes le font. Et ce parce que les sociétés animales sont en fait dépourvues de la faculté de véritablement améliorer leurs capacités à satisfaire leurs besoins et désirs. Les gazelles, depuis qu'elles existent, n'ont toujours rien trouvé de mieux pour éviter de finir dans l'appareil digestif du lion que d'essayer de courir plus vite que lui. Au mieux, un animal se déplace d'un territoire à un autre pour tirer un meilleur parti de la capacité à satisfaire ses besoins dont il est naturellement doté ; mais il ne peut améliorer cette capacité elle-même, et transformer par là sa condition. Et les sociétés humaines que l'on dit primitives sont des sociétés qui peuvent être considérées soit comme engagées de manière particulièrement lente dans un tel processus d'amélioration, soit comme engagées dans

un processus d'amélioration différent de celui qui est devenu prédominant par le biais de l'Europe occidentale.

Or, que certains types d'organisation politique, juridique et économique au sein d'une société donnée, ou au niveau de ses relations extérieures, puissent contribuer directement au développement ainsi entendu semble peu contestable. Mais il ne l'est pas plus qu'il s'agit là néanmoins d'éléments dont le rôle est surtout crucial pour assurer une équitable répartition de l'amélioration qui le définit. Et que celle-ci est en elle-même bien plutôt une affaire de progrès de connaissance, et d'une connaissance qui ne soit ni du genre de la spéculation métaphysique ni de celui de la révélation religieuse, mais de ceux de ces savoirs que l'on appelle scientifique et technique, le second étant généralement fondé sur le premier. C'est même cette contribution décisive à l'amélioration de la capacité des sociétés à satisfaire leurs besoins qui, à partir de la Révolution Scientifique du xvii^e siècle, a assuré le succès de l'entreprise scientifique ; et il ne paraît pas exagéré de dire qu'elle a été progressivement mise tout entière à son service.

Quoiqu'elle ait toujours eu ses critiques, la confiance ainsi placée dans le pouvoir de la science à faire progresser les sociétés dans la satisfaction de leurs besoins et désirs s'est pourtant vue profondément ébranlée dans les trois décennies qui ont clos le second millénaire. Un ébranlement qui trouve sa source dans la prise de conscience que les progrès réalisés s'accompagnaient en fait de graves effets négatifs, et qui est avant tout la conséquence du caractère grandissant de ces effets, dû à son tour à l'essor même des progrès qui en étaient la cause. Le développement est en d'autres termes entré en crise au moment même où il atteignait un point culminant, précisément parce que ses inconvénients furent alors naturellement portés eux-mêmes à un état paroxystique. C'est pourquoi cette crise, en quelque sorte rançon d'un succès, fut concomitante de la transformation industrielle sans précédent de la période qui suivit la Seconde Guerre mondiale, marquée tout à la fois par la reconstruction de l'Europe et par l'industrialisation progressive des pays du tiers-monde, grâce notamment au processus de décolonisation.

Elle trouve une expression très nette au plan des institutions internationales, et de l'Organisation des Nations unies en particulier, même si l'attitude de ces institutions doit beaucoup au travail critique de nombreuses personnalités et associations pionnières. C'est ainsi notamment sous l'influence des avertissements lancés en 1970 par les membres du Club de Rome dans leur célèbre rapport *Halte à la croissance*, que l'ONU formula ses premières grandes inquiétudes et recommandations à l'occasion d'une conférence sur l'environnement organisée en 1972 à Stockholm, dont la déclaration affirme

solennellement qu'« un point a été atteint dans l'histoire où il nous faut désormais, à travers le monde entier, attacher à nos actions une attention plus prudente à leurs conséquences environnementales », car « par ignorance ou indifférence nous pouvons infliger à l'environnement terrestre dont notre vie et notre bien-être dépendent un mal irréversible ». Sa première conséquence fut la création de l'influent *United Nations Environment Program* (UNEP), puis l'instauration de la *World Commission on Environment and Development* qui enquêta de 1983 à 1987 sur l'état du processus de développement dans la planète. Placée sous la direction de l'ancien premier ministre de Norvège Gro Brundlandt, cette commission dégagait en particulier la voie alternative de développement à laquelle l'ONU invita tous les pays du monde à se rallier et ouvrit le chemin de la plus emblématique de ces grandes réunions internationales qui scandèrent la mise en procès de celle au contraire suivie jusque-là, le Sommet de la Terre de Rio de Janeiro de 1992, qui adopta parmi de nombreuses résolutions d'importance le célèbre programme de mesures connu sous le nom d'Agenda 21. La *United Nations Commission on Sustainable Development* (UNCSD) fut créée dans la foulée pour en mettre en œuvre l'application, et en 2002 fut organisé le dernier sommet général onusien en date sur le développement, le *World Summit on Sustainable Development* de Johannesburg, pour mesurer le chemin effectivement parcouru et insuffler un nouvel élan à l'engagement de toutes les nations.

Il importe de souligner la singularité de la critique du développement, et du progrès scientifique qui le sous-tend, qui anime tout ce mouvement. De fait, toute une tradition de réflexion politique, sociologique et philosophique avait de longue date déjà entrepris de jeter sur eux le soupçon. Mais c'était avant tout pour dénoncer une inégalité dans la distribution des bénéfices qu'ils pouvaient et avaient procuré, ou aussi la spoliation des biens et du travail d'une partie de l'humanité dont on les voyait complices. Ou encore, plus tardivement, l'appauvrissement culturel sur lequel ils débouchaient à travers l'instauration d'une société de consommation axée sur la recherche d'un bien-être purement matériel. La critique qui se cristallise au début des années 70 dans le mouvement international qui vient d'être retracé est beaucoup plus radicale, parce qu'elle met en question leur capacité même à assurer le bien-être matériel, au nom des menaces nouvelles qu'ils apportent, aussi puissantes que les maux dont ils étaient censés triompher. D'où l'importance décisive dans son déclenchement de la question de la dégradation de l'environnement, où ces maux se donnent d'abord et de la façon la plus manifeste à lire, et qui est bien reflétée dans la chronologie de la réponse de l'ONU. La conférence de Stockholm qui en marque le point de départ est en effet une conférence sur l'environnement, et débouche sur une déclaration relative à l'environnement. Ce n'est que dans un deuxième temps que la commission Brundtland fait valoir que la question

environnementale ne saurait être séparée de celle de l'équitable répartition des fruits du progrès, en vertu de l'idée qu'un progrès qui ne s'autodétruit pas est non seulement un progrès qui ne détruit pas le capital environnemental où il puise sa source, mais qui sait aussi en distribuer les dividendes à l'ensemble de la population humaine. Le rôle joué par le réchauffement climatique est également parlant à cet égard. Par leur dimension globale et non plus locale, les manifestations accélérées de ce phénomène au cours des dernières années marquent en effet clairement l'apogée de ce mouvement de crise, en même temps que le moment où celle-ci s'empare des esprits à l'échelle planétaire et cesse définitivement d'être l'affaire de seuls groupes écologiquement engagés, montrant par là à quel point elle trouve bien sa source dans les effets délétères du développement sur l'environnement. À quoi bon disposer d'usines qui nous procurent une foison de biens d'équipement ou de véhicules qui nous mènent où bon nous semble, si le prix à payer est un dérèglement climatique qui assèche ou inonde les terres qui nous hébergent et nous nourrissent, nous rendant par là vulnérables à des menaces physiques apocalyptiques et des famines péniblement écartées au fil des siècles ?

Mais en jetant le doute sur la capacité du développement et du progrès scientifique à fournir l'amélioration de bien-être matériel qui est leur objet premier, cette critique est également plus radicale en ce qu'elle revient à douter de leur réalité même. Non pas en niant leurs succès par trop incontables, mais en invoquant les maux que ces succès ont engendrés, et qui les contrebalancent ou peuvent même aller jusqu'à les défaire. L'idée fondamentale à laquelle elle s'alimente est donc que le processus de développement dans lequel s'est engagée jusqu'ici l'humanité, « parvenue à un certain point de son histoire », a commencé de s'annuler. Que ses victoires aux allures éternelles ne sont en vérité que temporaires, soit qu'elles n'aient éliminé un mal que pour en faire surgir un autre, soit que celui-là même qu'elles semblaient avoir vaincu renaît *in fine* de ses cendres, comme ces bibliques invasions de flots ou ces pénuries alimentaires dont le spectre se profile à nouveau sur l'avenir du XXI^e siècle.

Et c'est pourquoi aussi la revendication fondamentale sur laquelle elle a débouché est celle d'un développement durable. Car qu'est-ce à son niveau le plus essentiel qu'un développement durable, sinon un développement pérenne parce que ne s'annulant pas au fil du temps ? Il serait erroné cependant de voir là une innovation radicale. À certains excès près, le développement a toujours été fondamentalement animé de l'intention d'être durable et d'apporter des bienfaits définitifs. Le problème est bien plutôt qu'il s'est avéré ne pas l'être, et que la décision ne peut plus être retardée de lui en substituer un qui le soit véritablement. Le développement suivi jusqu'ici ne peut

être qualifié de non durable qu'au seul sens où il a simplement eu l'illusion de pouvoir être durable, et non la volonté de ne pas l'être. On peut toutefois indéniablement lui reprocher de s'être bercé d'une telle illusion en partie au moins par insouciance. Et donc de devoir son échec à une certaine inconséquence. C'est pourquoi encore le développement durable ne peut être conçu comme un développement animé d'une intention foncièrement nouvelle que par le fait de manifester un souci beaucoup plus profond de sa durabilité. La revendication du développement durable n'est pas celle d'un développement qui n'offrirait aucun risque de s'annuler, mais celle d'un développement qui prend toutes les précautions possibles pour minimiser ce risque. Et c'est par là seulement qu'il constitue un mode nouveau de développement, mode nouveau qui ne consiste donc au fond en rien d'autre qu'en une conscience beaucoup plus vigilante de ses responsabilités.

Mais comment l'atteindre ? La tentation est toujours grande, face à un échec d'une certaine ampleur, de remettre en cause cela même qui y a conduit. Il s'agit là en vérité d'une attitude parfaitement rationnelle, sauf à verser dans l'excès. Or pouvons-nous renoncer à la connaissance scientifique et défaire le lien séculaire que le développement entretient avec elle ? Il est patent que notre société en est incapable, au-delà de la question de savoir si une société peut en principe même se développer sans science. Elle n'en a plus la possibilité effective, quand bien même elle en aurait la possibilité théorique. Car ce que la déclaration de Stockholm ne dit sans doute pas assez, c'est que le point que nous avons atteint dans l'histoire est aussi à cet égard un point de non retour, et que nous sommes condamnés à conserver l'alliance du développement et de la science. D'abord, parce que la science est seule capable de nous fournir le diagnostic des dommages créés, ainsi qu'en témoignent la multitude d'agences d'expertise qui nous guident désormais sur la pureté de nos eaux, l'innocuité de nos aliments ou la respirabilité de notre air, et dont l'*Intergovernmental Panel on Climate Change* est devenu aujourd'hui la figure héroïque. Ensuite, parce que la science est indispensable à la réparation de beaucoup de ces dommages, même si tout n'est pas entre ses mains. Enfin, parce que la science seule est capable de fournir la plupart des moyens nécessaires à la survie de l'humanité à laquelle la voie suivie jusqu'ici a donné le jour, sauf à plonger celle-ci dans une régression sans précédent, du type de celle que le Club de Rome voyait précisément nous menacer au bout de cette voie sous le nom d'effondrement. La crise du développement condamne beaucoup moins la science qu'elle ne nous condamne à la science. À poursuivre sa construction, à relancer plus que jamais ses efforts pour parvenir à dépasser ses limites présentes, et par là, à réparer les erreurs passées qu'elle a permises en même temps qu'à dégager des horizons plus solides. Ce qui lui demande de franchir de nouvelles frontières. La société attend par exemple de la science

tout à la fois qu'elle réduise l'excessive concentration atmosphérique de gaz carbonique résultant de l'exploitation de certaines énergies fossiles, qu'elle substitue à ces dernières des énergies propres capables néanmoins de remplir une fonction équivalente, et enfin qu'elle continue à franchir de nouvelles étapes dans la conquête de l'abondance énergétique. Une triple attente qu'elle ne saurait remplir sans pénétrer des mécanismes de la nature dont elle ne sait que fort peu encore. Le défi du développement durable est fondamentalement un défi à l'innovation scientifique et technique, parce qu'il exige que nous sachions faire des choses qui dépassent nos compétences actuelles, et auxquelles seule la recherche peut nous donner accès.

Ce rôle primordial de la connaissance scientifique dans la conquête du développement durable est d'ailleurs très largement reconnu et n'a cessé de se trouver réaffirmé avec une force croissante à chacune des étapes cruciales de la mobilisation qu'il a suscitée depuis près de quarante ans maintenant. Dès 1972, le principe 18 de la déclaration de Stockholm énonce que « la science et la technologie [...] doivent être appliquées à l'identification, le repousse-ment et le contrôle des risques environnementaux, ainsi qu'à la solution des problèmes qu'ils soulèvent au bénéfice de l'humanité ». Le Sommet de la Terre de Rio avance à son tour au chapitre 35 de l'Agenda 21 que « les sciences sont de plus en plus reconnues comme une composante essentielle de la quête de voies possibles vers le développement durable », et reconnaît officiellement la communauté scientifique et technique comme l'un des neuf groupes sociaux essentiels à la réorientation de notre mode de développement. C'est ainsi que celle-ci fut étroitement associée à la préparation et à la réalisation du sommet de Johannesburg par le biais de l'*International Council for Science (ICSU)* et de la *World Federation of Engineering Organizations (WFEO)*. Le prix Nobel accordé en 2007 à l'IPCC s'inscrit enfin dans la même logique, en même temps qu'il la consacre. Mais peut-être est-ce dans l'allocution présidentielle de la biologiste Jane Lubchenco au congrès annuel de l'*American Association for the Advancement of Science* de 1999, que cette reconnaissance du caractère primordial de la connaissance scientifique a trouvé l'une de ses plus vibrantes expressions. Admettant expressément que « la recherche fondamentale est plus pertinente et nécessaire que jamais auparavant », celle-ci y appela solennellement, au seuil du troisième millénaire, la communauté scientifique et technologique tout entière à passer avec la société un « nouveau contrat », par lequel elle prenait « l'engagement d'harnacher toute la puissance de l'entreprise scientifique [...] à l'effort de la société pour créer une biosphère plus durable ».

Une telle façon de mettre l'entreprise scientifique au service de la poursuite d'un développement soucieux de sa durabilité n'est pas sans implications sur la manière même dont cette entreprise est conduite, et dont, dans la lignée

de son engagement au Sommet de Johannesburg, l'ICSU a d'ailleurs proposé d'intéressantes analyses, en particulier dans son rapport précisément intitulé *Harnessing Science, Technology and Innovation for Sustainable Development*. Elle appelle en effet notamment l'établissement de nouvelles formes d'interaction entre la communauté des savants et les autres composantes de la société aux différentes étapes du processus scientifique, de manière à ce que le choix des objectifs de recherche soit plus en phase avec les besoins réels des populations, que les résultats obtenus soient mieux connus de ceux qui en exploitent les possibilités industrielles comme de ceux qui ont à charge de légiférer et de gouverner, que les innovations mises au point soient plus facilement comprises et acceptées par l'opinion publique, et que les problèmes éthiques et légaux soulevés soient débattus de manière aussi constructive que possible. La transformation de la science que requiert le développement durable n'est pas qu'affaire de découvertes, elle l'est aussi de manières de chercher.

Et c'est bien dans cette double perspective qu'il convient de lire l'ouvrage de François Gros. Car si celui-ci s'y attache avant tout à mettre en pleine lumière ce que les grands résultats de la biologie contemporaine issus de sa révolution moléculaire ont commencé d'apporter à la quête d'un développement enfin maître de ses conséquences, son engagement en faveur d'une plus grande interaction dans le processus même de la recherche entre le monde de la science et le reste de la société est sans ambiguïté. Non seulement il souscrit aux travaux de l'ICSU auxquels il fait d'ailleurs référence lui-même, mais il a multiplié tout au long de sa carrière, en particulier à travers ses responsabilités à la tête de l'Institut Pasteur puis de l'Académie des sciences, les initiatives en ce sens. Son implication déterminante dans le Forum Mondial Biovision des Sciences de la Vie en est peut-être une des plus claires illustrations. Organisé par la Fondation Scientifique de Lyon, ce Forum s'efforce en effet précisément depuis plus d'une dizaine d'années d'œuvrer à une meilleure articulation entre les sciences de la vie et les grands défis du développement des sociétés contemporaines, en invitant des chercheurs, des industriels, des décideurs politiques et des leaders d'opinion à examiner régulièrement leurs plus récentes orientations de recherche à la lumière de certains thèmes développementaux d'une particulière actualité. L'ouvrage de F. Gros puise d'ailleurs sans doute une partie de son inspiration dans sa participation à cette unique et audacieuse entreprise. Tous ceux qui l'ont imaginée, fondée et animée y trouveront quant à eux à coup sûr un puissant motif de persévérance. Qu'il en soit remercié.

Jean-Michel Roy
Université de Lyon
École Normale Supérieure
Lettres Sciences Humaines

INTRODUCTION GÉNÉRALE

L'un des traits dominants, et sans doute le plus caractéristique de l'entrée dans le ^{xxi}^e siècle, est la prise de conscience qui se dessine au niveau mondial, quant à l'évolution de l'environnement planétaire, ce que traduit assez bien le concept de développement durable. Prise de conscience de ce que la planète recèle en richesses naturelles, sorte de patrimoine commun mais qui va s'amenuisant (l'eau étant la ressource par excellence), préoccupations grandissantes quant aux effets de réchauffement climatique et à la diffusion des maladies émergentes, sans parler de l'exode rural et de la surpopulation urbaine et surtout du déphasage économique des pays les plus démunis que contrastent les nouveaux appétits de consommation déployés par les autres.

Cette vision quelque peu prométhéenne, si elle répond souvent à un réflexe d'autoprotection des grands pays nantis, témoigne également, pour la première fois dans l'histoire, d'un mouvement de solidarité internationale véritable visant à relever tous ces défis, de façon concertée. Que la Science ait un rôle à jouer pour parvenir aux solutions de ces gigantesques problèmes qui s'étalent sur le très long terme, traduit une expression et même un rêve qui ne sont pas sans rappeler les accents du « siècle des Lumières ». Ce qui est nouveau c'est précisément de passer désormais du discours, voire de l'incantation et des bons sentiments, à une réflexion organisée, concrète et concertée sur la manière d'agir et en fonction de quels critères. Les objectifs du millénaire « fixés » à Johannesburg en témoignent.

Le présent ouvrage a précisément pour but de faire le point sur les apports actuels ou prévisibles des sciences de la vie, au regard de la problématique générale du développement. Pourquoi les sciences de la vie ? Parce qu'elles recèlent dans leurs acquis, dans leur méthodologie, dans leurs récentes avancées techniques, des réponses à maintes questions de ce siècle ; réponses parfois de long terme, parfois à « portée de main ». Les sciences de la vie ont en effet

dépassé, grâce à la biologie moléculaire et cellulaire, aux techniques de l'ADN recombinant, à la génomique, à la bioinformatique, le stade du recensement et de description des phénomènes de la nature – quelque qu'essentiel qu'ait été, et en demeure d'ailleurs l'intérêt, pour devenir de véritables « sciences d'intervention ». Pour le meilleur, mais aussi pour le pire diront certains ! Peut-être ? Mais à la sagesse de l'homme, à une éthique permanente et constructive, à la volonté politique de faire que soit privilégié le « meilleur »....

Dans la première partie, l'ouvrage accorde tout d'abord une place importante à la dimension historique qu'a revêtue le long périple de la pensée biologique, depuis la vision particulière des anciens, jusqu'aux prémisses de la biologie moléculaire. Long périple en effet, où la Biologie devient peu à peu une science expérimentale après avoir été l'expression de la métaphysique et des dogmes où elle trouve enfin son unité dans l'étude de la vie cellulaire avant de dégager un principe d'universalité du monde vivant dans la réactivité des macromolécules... Sont donc passées en revue les grandes percées que nous a values la biologie moléculaire pour arriver à la démarche actuelle : celle qui tente de dépasser la caractérisation des gènes et de leurs produits, pour atteindre à une véritable biologie intégrative ou « biologie des systèmes ». Celle-ci s'attaque en effet à l'énorme complexité des « réseaux » de régulation génétique et aux interactions physicochimiques des protéines dans l'espoir d'expliquer les grandes fonctions du vivant. Avec l'appui renforcé de la bioinformatique, des nanosciences (puces à ADN), et de certaines techniques physiques à haute résolution, voire des mathématiques appliquées et des simulations, cette post-génomique pense en effet être à même de jeter un regard nouveau sur des processus aussi complexes que : l'évolution, la reproduction, la différenciation, le vieillissement et la mort cellulaire, sans oublier certaines des grandes fonctions du système nerveux.

Dans la seconde partie de l'ouvrage, on s'efforce d'illustrer les applications issues de la biologie contemporaine et des biotechnologies, à l'analyse, à la prévision et souvent même à la solution de quelques grands problèmes de développement tels que : la connaissance et la protection de la biodiversité (métagénomique), les maladies génétiques, le cancer et les prémisses d'une thérapie génique, les cellules souches et les espoirs placés dans les thérapies régénératives, la lutte contre les maladies infectieuses (et notamment les anthrozooses) et, sur un autre versant, les apports récents de la biologie en vue d'une agriculture durable (lutte contre la faim, prévisions climatiques, plantes transgéniques, aspects socio-économiques et éthiques).

La Biologie n'est pas la panacée qui permettra de résoudre ces grands problèmes, lesquels se posent aujourd'hui aux hommes et atteignent, parfois,

la planète entière. L'importance majeure du statut économique des Nations, comme de celui des femmes et des hommes qui les composent, le courage politique ou encore le rôle des sciences humaines et sociales, sont des facteurs déterminants, dont l'importance n'échappe pas aux auteurs de l'ouvrage.

Mais la Biologie, et ses prolongements techniques, appuyée, il est vrai, par bien d'autres disciplines de la science, nous permettent de mieux comprendre la nature et la gravité des grands défis du développement tout en nous proposant souvent des parades voire des solutions, pour les objectifs de long terme. Il serait dommage de ne pas nous en saisir !

PREMIÈRE PARTIE

LE FABULEUX DESTIN
DE LA BIOLOGIE

I.1. APERÇUS HISTORIQUES

I.1.1. LA VISION DES ANCIENS

L'histoire de la Biologie s'enfonce dans un passé si lointain qu'on serait fort en peine d'en situer les débuts avec précision. On imagine difficilement que, dès l'éveil de sa conscience, l'homme n'ait pas été tenté de s'interroger sur l'essence même de son être propre, comme sur les relations de l'Univers physique et du vivant en général. Plusieurs facteurs, voire plusieurs « moteurs » d'inspiration, ont dû en être la cause : la curiosité première, cette antichambre de la connaissance (à laquelle il est fait allusion dans la Bible !), la crainte des grands cataclysmes et la recherche de leur sens caché qui devaient conduire aux dimensions du surnaturel, puis du religieux ou, encore et plus concrètement, le désir de classer les êtres vivants face à leur foisonnement. Plus tard enfin s'imposera l'idée de domestiquer les plantes et les animaux et donc d'en mieux connaître les traits distinctifs et les propriétés.

Par son statut d'indépendance vis-à-vis du monde inanimé, la nature de ce qui est vivant (en tant que distincte de celle du monde physique) a d'ailleurs de bonne heure attisé la curiosité des Anciens. Pour des penseurs aussi prestigieux que Pythagore (570-480 avant J.-C.), Platon (428-348 avant J.-C.) ou Empédocle (490-438 avant J.-C.) les êtres et les choses sont constitués par un mélange des quatre éléments physiques majeurs : l'air, la terre, l'eau et le feu, dans des proportions conditionnant leur spécificité. Pour Démocrite, objets inanimés et êtres vivants résultent de l'assemblage d'atomes, mais le vivant s'avérera longtemps difficile à cerner ; n'est pas vivant ce qui ne se déplace pas ! D'où la conception émise par certains que les plantes, par exemple, ne sont que des animaux imparfaits incapables de se mouvoir d'un point à un autre, des animaux inversés, devenus immobiles, la tête enfouie dans le sol et dont les racines sont les antiques chevelures ! Toutefois, l'engendrement, la capacité de se reproduire et de croître mais

aussi la morphologie, les déséquilibres physiques, les maladies de toutes sortes aiguïseront peu à peu les approches à une connaissance médicale, chirurgicale traçant les premiers jalons de l'anatomie et de la physiologie et préparant à une meilleure connaissance de ce que nous appellerions, aujourd'hui, la biodiversité.

À cet égard, Aristote (384-322) peut être considéré comme le premier « naturaliste » de l'histoire. On lui doit d'avoir répertorié et classé plus de 500 espèces d'animaux, d'insectes, poissons, reptiles et mammifères s'intéressant également à leur croissance, à leur mode de reproduction, à leur locomotion. À Théophraste (372-287) devait revenir le titre de « père de la botanique ». Il a décrit des centaines de plantes, proposé des classifications ingénieuses, observé la germination des graines et précisé les propriétés thérapeutiques de nombreux extraits végétaux.

Les premières dissections du corps humain remontent à la période présocratique. Ainsi le médecin grec Alcméon (VI^e siècle avant notre ère) reconnaît le cerveau comme siège de la pensée, laquelle était jusqu'alors supposée résider dans le cœur ! Il a l'intuition que la santé résulte d'une parfaite harmonie entre toutes les « substances » qui composent le corps et que la maladie est une rupture de cet équilibre.

Hippocrate tout en faisant, lui-aussi, référence à la théorie des quatre éléments, introduira la doctrine des « humeurs » (plus biologiques !) : le sang, la bile jaune, la bile noire et la pituite ! De leur harmonie, de leur bon dosage en quelque sorte, dépend l'équilibre « santé-maladie », ce qui ne l'empêche pas de conjecturer que le feu, ou « air enflammé » est le premier principe de vie ou « pneuma » qui anime cœur et vaisseaux. Puis à partir des observations d'Hérophile (330-260) et d'Érasistrate jusqu'aux travaux systématiques de Galien, au II^e siècle de notre ère, l'anatomie poursuivra sa progression permettant l'essor de la chirurgie et préparant à la connaissance physiologique du corps humain.

On serait donc tenté de dire que, peu à peu, le « vivant » est en train de trouver sa place dans l'Univers avec les premières descriptions des règnes animal et végétal, et grâce à une connaissance de plus en plus précise de l'anatomie des animaux et du corps humain. On pourrait donc penser que de la vision « continuïste » des premiers philosophes grecs (École de Millet) où les éléments naturels qui font le monde inanimé, sont aussi les éléments constitutifs de la vie, vont se dégager enfin les formes, le contenu, voire même les mécanismes de ce que nous appelons aujourd'hui : le monde biologique. Mais ce serait là aller trop vite en besogne.

En effet, l'histoire de l'Antiquité et ses prolongements jusqu'aux débuts de la Renaissance montrent que la pensée est, sans cesse, à la recherche « d'un ordre permanent uniforme et abstrait d'où l'on peut déduire le monde changeant de l'observation » (A. Cameron). Ainsi, pour Platon (428-348), la perception n'est-elle qu'illusion. Pour lui, les idées sont au-dessus des choses, et il faut donner la suprématie à la raison, mais c'est rechercher la réalité derrière les apparences. Ainsi l'abstraction, l'invocation de forces naturelles ou surnaturelles reviennent souvent dans la recherche des causes de la vie. Tels sont, par exemple, le fameux « pneuma » de Galien ou son « principe de chaleur ». Ainsi, selon lui, c'est le « pneuma » qui fait se contracter les muscles sous l'effet d'une excitation produite par les nerfs. Pour Descartes, ce seront les « esprits animaux ». Ce n'est que beaucoup plus tard (au xvii^e siècle) que l'existence des mécanismes réflexes sera établie. Ce n'est donc pas la scolastique médiévale, où la pensée et la culture grecques sont souvent relayées par les Arabes mais où la théologie continue d'intervenir en force, qui va permettre de « passer » de la théorie spéculative, et du monde abstrait des idées, à la vérification expérimentale. Il convient toutefois de réserver ici un statut particulier à l'alchimie¹.

I.1.2. L'ÉPOPÉE NATURALISTE ET LA PHYSIOLOGIE EXPÉRIMENTALE

Mais c'est au médecin anglais, William Harvey (1578-1657), à une période marquant la transition du xvi^e et du xvii^e siècles, qu'il faut attribuer le mérite considérable d'avoir permis, grâce à la découverte de la grande circulation sanguine, que la science du vivant soit désormais reconnue comme une science expérimentale. En effet, par ses travaux, notamment ceux portant sur la ligature des vaisseaux, Harvey n'est pas seulement en rupture avec la pensée obscurantiste qui prévalait au sujet des grandes fonctions du corps humain, il fut un précurseur de la physiologie expérimentale qui s'imposera par la suite au xix^e siècle et contribuera à dessiner les contours spécifiques d'une véritable « science de la vie ».

1. On sait l'importance que devait, en effet, revêtir « l'expérimentation métallurgique » (surtout l'usage du soufre et du mercure) chez les premiers alchimistes grecs, arabes ou chinois. Certes, le mysticisme n'est pas absent, tant s'en faut, de l'usage des liqueurs, sublimés et élixirs en tous genres (Geber, 721-815). Il n'empêche que l'on peut voir, dans ces pratiques, l'embryon de la méthode expérimentale. L'alchimie se rapproche, en effet, de la chimie dans sa version occidentale (xiii^e et xiv^e siècles) et surtout elle commence à s'imposer, souvent avec succès, en prophylaxie et médecine, avec Bruno Valentin et Paracelse, au xv^e siècle, lesquels introduiront l'usage des sels d'antimoine ou de mercure pour le traitement des maladies infectieuses (syphilis).

À partir du xvii^e siècle et pendant le xviii^e, les sciences de la vie vont connaître un tournant majeur. D'une part, les travaux en anatomie humaine et anatomie comparée (Fabricius d'Acquapendente, Wharton, Sylvius, Pecquet et de Graaf) progressent rapidement. D'autre part, une véritable « Systématique » commence à se développer. Elle va s'illustrer tant dans le règne végétal, (avec les Cesalpin et les frères Baudin), et surtout grâce à l'œuvre gigantesque de Carl von Linné (1707-1778), auteur de la classification binomiale, que dans le règne animal (Buffon, Daubenton 1716-1800).

Le xviii^e siècle sera, en effet, l'âge d'or des premiers naturalistes. Leur attitude face aux objets vivants emprunte à la démarche scientifique en tentant de s'abstraire, du moins dans la première moitié du siècle, de la dimension métaphysique et en cherchant plutôt à mettre l'accent sur les techniques d'observation. Parmi les critères scientifiques dont se réclament leurs plus illustres représentants (tels que Bonnet, Necdham, Spallanzani, Buffon, Réaumur) figure, avant même leur reproductibilité, le « suivi » des expériences. L'idée qui prévaut désormais est que, sans une longue suite d'observations cohérentes et éventuellement coordonnées autour d'un thème, on ne saurait être considéré comme ayant fait œuvre de savant.

Cette phase naturaliste (qui a débuté en réalité à la fin du xvii^e siècle, englobant les deux premiers tiers du xviii^e), est vraiment celle où l'on entreprend de dresser l'immense répertoire de ce qui vit. On y décrit et classe des milliers d'espèces animales et végétales. Le nombre d'espèces ainsi caractérisées augmente considérablement. Pour autant, le travail des naturalistes ne se limite pas à un simple inventaire (si gigantesque soit-il). Qu'il s'agisse des travaux d'un Charles Bonnet, de l'Abbé Spallanzani, de Réaumur ou de Buffon, on assiste à l'éveil d'une véritable physiologie, c'est-à-dire à l'effort de comprendre les grandes fonctions du vivant. Certes, et comme nous l'avons vu, le médecin anglais Harvey aura, de bonne heure, donné le ton en découvrant la circulation sanguine, mais nous devons à l'œuvre des naturalistes dans la période précédant la Révolution française, une multitude d'informations et de descriptions parfois très détaillées sur des processus aussi nombreux et variés que « l'engendrement » animal (Ch. Bonnet), la reproduction sexuée (Spallanzani), la régénération des membres chez la salamandre aquatique ou chez les polypes (A. Trembley, Bonnet), les effets de la température sur l'éclosion des œufs (Réaumur), la vie des abeilles et, plus généralement, le comportement des insectes (Buffon).

C'est aussi l'ère par excellence de la botanique, celle des herbiers et de l'herboristerie, chère à Jean-Jacques Rousseau ! Là encore, le vaste règne végétal commence à se prêter à l'expérimentation physiologique (effet de la

lumière sur la croissance des plantes, absorption de l'eau par les feuilles, etc.). Rarement la foi dans la science, n'aura été aussi vive ! Pourtant c'est vers la fin du XVIII^e siècle, dans la période qui fait suite à la Révolution française, (période qui verra la naissance du Muséum d'histoire naturelle (1793) remplaçant le Jardin royal des Plantes médicinales), que les naturalistes vont donner leur pleine mesure en dégageant les premières grandes approches synthétiques dans les sciences du vivant. Celles-ci déboucheront sur certaines des hypothèses et certains résultats parmi les plus fondamentaux de la biologie, dans son essence même, à savoir le corpus d'idées sur l'évolution.

Buffon (1707-1788), intendant du Jardin du Roi, fut l'un des premiers naturalistes à s'intéresser à la genèse des espèces, en imaginant qu'elles dérivent de « molécules organiques ». Mariotte, puis surtout Maupertuis (1698-1759) étaient allés plus loin, puisque ce dernier, dans son *Essai sur la formation des êtres organisés*, avait fait montre d'un évolutionnisme avant la lettre, en faisant appel à une hypothèse corpusculaire de l'hérédité « dont les transformations fortuites engendrent la diversité des êtres vivants » (D. Buican *in La génétique et l'évolution*, Que sais-je ?, 2^e édition, 1993). Mais ces tentatives d'explication atomistes de la genèse des espèces, préfigurant l'existence des gènes et des mutations, demeureront longtemps ignorées, car trop en avance sur leur temps. Les lois de Mendel ne verront le jour qu'en 1863, passant inaperçues ou ignorées pendant des décennies, pour être redécouvertes au tout début du XX^e siècle (Hugo de Vries, Correns, Tshermak).

Il est d'ailleurs important de souligner que la première grande théorie globale de l'évolution due à J.-B. Lamarck, celle du transformisme et de l'hérédité des caractères acquis, parue en 1809, dans la « philosophie zoologique », s'échafaudera bien avant la naissance de la génétique. Le célèbre tenant de la « chaire des animaux sans vertèbres », au Muséum d'histoire naturelle, bien qu'adepte de la génération spontanée aura, à travers ses expériences sur les infusoires, l'intuition selon laquelle, à partir d'organismes primitifs se sont formés progressivement des êtres beaucoup plus complexes. Il explique ces transformations progressives vers l'acquisition de caractères propres à une organisation de plus en plus complexe, comme relevant de deux mécanismes : l'un correspond selon lui à une sorte de « tendance inhérente » aux êtres vivants, voire même à la « matière vivante », vers le perfectionnement ! L'autre est due à la pression des circonstances extérieures : l'adaptation au milieu engendre des besoins modifiant graduellement la physiologie et l'anatomie, etc. Ces modifications se transmettent héréditairement, ce qui explique la diversité des espèces.

Le transformisme de Lamarck se heurtera, cependant, au « fixisme » de Georges Cuvier (1769-1832). Ce grand zoologiste, fondateur de la paléontologie,

établira une véritable classification zoologique. Or, paradoxalement, bien que ses observations sur les espèces disparues eussent pu servir à étayer le transformisme de Lamarck, il combattra les idées de celui-ci, pourtant défendues elles aussi par son collègue et ami, Geoffroy Saint Hilaire. Le fixisme est une hypothèse selon laquelle les espèces, dans leur diversité actuelle, sont toutes apparues en l'état par la volonté du créateur. Pour le fixisme, l'hérédité est invariable. La diversité biologique peut d'ailleurs résulter de changements brutaux imposés par le milieu et conduisant à l'extinction des espèces dont l'existence avait été voulue par le créateur (catastrophisme), ce qui expliquerait les découvertes des organismes fossiles dont Cuvier lui-même fut le grand spécialiste. Le transformisme a connu bien des variantes et l'hérédité des caractères acquis s'est longtemps imposée (y compris au sens commun !) jusqu'à la publication de *L'origine des espèces* (1859) et à l'éclosion des théories darwiniennes, donnant à l'évolutionnisme l'éclairage nouveau que l'on sait, et auquel adhère en général la communauté scientifique moderne, à savoir, la sélection naturelle qui s'exerce sur des variations héréditaires, éventuellement aléatoires. On sait comment, en postulant les effets sélectifs du milieu sur les êtres vivants au stade de leur reproduction et l'isolement géographique permettant la propagation de ceux qui ont acquis des avantages sélectifs, Darwin explique l'origine de la diversité des espèces (sans d'ailleurs rejeter, il est vrai, l'hérédité de l'acquis).

On doit à August Weissmann d'avoir définitivement réfuté ce mode Lamarckien de transmission héréditaire grâce à ses expériences sur les souris et surtout d'avoir formulé, pour la première fois en 1883, sa théorie concernant la continuité du « plasma germinatif », due à l'existence de « filaments nucléaires » (les futurs chromosomes) présents dans les cellules germinales. C'est en agissant à leur niveau, et non à celui des cellules somatiques, comme le pensait Lamarck, qu'opère, propose-t-il, la sélection darwinienne.

Les idées de Weissmann sont donc à l'origine de la théorie chromosomique de l'hérédité que développera le grand biologiste américain T.H. Morgan, en 1926, dans la *Théorie des gènes*. Le néo-darwinisme trouvera son expression définitive une fois découvertes les mutations (Hugo de Vries, Müller) et après qu'aura été établie, en quelque sorte, la « jonction » entre la sélection naturelle et les modifications imposées lors des mutations, au niveau des gènes (théorie synthétique de l'évolution)².

2. En anticipant par rapport aux aperçus historiques du problème tels qu'ils sont développés ici (c'est-à-dire ceux qui couvrent la période s'étendant des premiers évolutionnistes aux tenants de la sélection naturelle et aux mutationnistes du début du xx^e siècle), on peut dire que les théories modernes sur l'évolution se sont inspirées de la cytogénétique, de la biologie moléculaire et de la génomique. L'accent a été mis sur des processus tels que les remaniements chromosomiques (recombinaisons, fusions, etc.) assortis d'un maintien de la fertilité sexuelle et sur une sélection

Avec le XIX^e siècle, les sciences du vivant continuent de s'affirmer à travers la description des grandes fonctions physiologiques, grâce aux percées dans le domaine de l'embryologie et à l'essor spectaculaire de la biochimie.

Enfin, suite aux travaux de physiologistes tels que François Magendie (1783-1855), et surtout Claude Bernard (1813-1878), les théories vitalistes cesseront de prévaloir. Ainsi, selon Magendie : « la physiologie, liée intimement aux sciences physiques, ne pourra plus faire un pas sans leur secours, elle acquerra la rigueur de leur méthode, la précision de leur langage et la certitude de leurs résultats... »³. Claude Bernard, l'auteur de *L'introduction à la médecine expérimentale*, jettera les bases méthodologiques de la recherche moderne sur le vivant, en dégagant clairement le principe d'objectivité dans la démarche expérimentale et en s'appuyant sur des fondements essentiellement déterministes.

I.1.3. À LA RECHERCHE D'UN FORMALISME UNIFICATEUR DU VIVANT (ENZYME, MÉTABOLISME, BIO-ÉNERGÉTIQUE)

La chimie, puis la biochimie, prenant le relais de l'œuvre évolutionniste et prolongeant l'orientation déterministe des physiologistes, seront à l'origine des premières contributions scientifiques visant à affranchir définitivement le vivant des forces vitales mais aussi de l'épopée classificatrice des naturalistes. Wöhler en réussissant la synthèse de l'acide oxalique (1824) et celle de l'urée (1828), deux produits du métabolisme, crée les fondements de la chimie biologique. La « matière vivante » devient matière tout court ! Mais surtout la biochimie va fournir les premières explications de la vie à l'échelle cellulaire avec l'énorme apport de l'enzymologie. La vie devient la résultante du jeu remarquable des enzymes, véritables catalyseurs des réactions chimiques de nos tissus : derrière chaque « propriété » du vivant se profile(nt) une ou plusieurs enzymes. Un coup décisif est ainsi porté aux forces vitales dès lors que certaines réactions, propres au vivant tissulaire, peuvent être reproduites dans le tube à essai.

naturelle opérant au niveau d'un ensemble de micro-mutations, ou de macro-mutations affectant des gènes de développement, etc. Les études récentes, portant sur la comparaison des séquences génomiques, ont apporté également des éclairages importants sur les mécanismes probables du passage d'une sous-espèce à une autre (levures, poissons téléostéens). On s'efforce également de comprendre comment la conjonction des modifications génétiques et de la pression sélective exercée par le milieu (isolement géographique, passage à la station bipède...), mais aussi l'apprentissage, etc., ont pu favoriser l'émergence parmi les grands singes anthropoïdes, du genre « Homo », doué d'un cerveau de capacités cognitives supérieures et de la faculté de langage.

3. F. Magendie, *Précis élémentaire de Physiologie* (1825).

Avec l'étude biochimique de la cellule, venant alors relayer la cytologie (qui, avec la théorie cellulaire⁴, avait fourni la première théorie unificatrice du vivant), vont s'imposer tout d'abord les concepts liés aux processus fournisseurs d'énergie. Désormais, ce qui caractérisera l'étude du vivant, entre la fin du XIX^e siècle et le milieu du XX^e, ce sera avant tout l'énergétique cellulaire. Cette « vision particulière » de la vie, cet énergétisme, s'inscrit bien dans la mouvance physico-chimique des biologistes mais aussi des philosophes de l'époque qui vont désormais s'efforcer de ramener les propriétés et mécanismes des êtres vivants à un ensemble de structures et/ou de réactions relevant de sciences ayant éclairé jusqu'alors le monde inanimé.

En cette affaire, Lavoisier (1743-1794) avait été un génial précurseur grâce à ses travaux sur l'oxygène et sur la respiration animale qu'il assimilait à une combustion. Mais, entre la fin du XIX^e siècle et les premières décennies du XX^e, grâce à Louis Pasteur (1822-1895) ainsi qu'aux enzymologistes allemands et américains, les grands mécanismes responsables de la fermentation des sucres et de la respiration tissulaire (H. Krebs) seront peu à peu élucidés alors qu'en parallèle sont découvertes les sous-structures cellulaires, ou « organites », (mitochondries, chloroplastes) au niveau desquels s'effectuent les échanges respiratoires et/ou la photosynthèse chez les organismes supérieurs. L'accent est alors mis par les biochimistes sur deux processus clés : les phénomènes d'oxydo-réduction qui mobilisent les déshydrogénases et la chaîne des cytochromes, véritables pigments respiratoires (Keilin) et le rôle clé des phosphorylations. L'ATP, composant névralgique de la cellule, et dont le rôle est d'être la plaque tournante de l'énergétique cellulaire, sera caractérisé par l'Allemand Karl Lohmann (1898-1978). Plus près de nous, dans la période faisant suite à la dernière guerre mondiale, le biochimiste américain, Fritz Lipman (1899-1986) (un réfugié de l'Allemagne nazie), introduira le concept de substances « riches en énergie » ainsi appelées puisque l'hydrolyse de leurs liaisons covalentes avec les radicaux phosphates dégage l'énergie nécessaire à la transphosphorylation des glucides ou d'autres accepteurs. Ainsi, les métabolites phosphorés peuvent-ils être classés sur le plan énergétique, en fonction de leur « potentiel d'hydrolyse », ce qui permet de prévoir l'évolution d'une cascade métabolique faisant intervenir une succession d'échanges de radicaux phosphorés.

Toutefois, si les oxydo-réductions et les transphosphorylations qui accompagnent l'utilisation dégradative des substrats carbonés, expliquent, somme toute de manière satisfaisante, comment la cellule tire son énergie du milieu ambiant en mettant en jeu une multitude d'enzymes et de cofacteurs,

4. T. Schwann (1810-1882).

force est de se rendre peu à peu à l'évidence que la cellule ne se réduit pas à une « microcentrale énergétique » ! Un formidable problème va continuer, désormais, et pour des décennies, à défier les biologistes. C'est celui de la formation proprement dite des constituants cellulaires et de leurs précurseurs.

Parlons d'abord de ces derniers, ceux que les biochimistes désignent sous le nom de « métabolites essentiels » : les acides aminés (éléments constitutifs des protéines), les bases puriques ou pyrimidiques (qui entrent dans la composition des « nucléotides », eux-mêmes chaînons élémentaires des acides nucléiques), mais aussi les sucres simples, les vitamines, etc. On compare souvent ces précurseurs métaboliques aux « briques » (en anglais « *building blocks* ») dont l'assemblage conduit aux édifices macromoléculaires présents dans la cellule elle-même. Ces métabolites sont fournis à l'état préformé ou par digestion des aliments chez les animaux. En revanche, chez les végétaux et dans le monde microbien, ils sont fabriqués à partir de composés carbonés plus simples, tels que les acides organiques, intermédiaires chimiques de la respiration cellulaire, (cycle de Krebs), ou à partir des composés en C_3 ou C_4 , dérivés eux-mêmes du CO_2 lors de la photosynthèse. Une bactérie, par exemple, est capable de synthétiser tous ses constituants cellulaires à partir d'une simple et unique source de carbone tel que le glucose, de sels ammoniacaux, de phosphates et d'oligo-éléments minéraux. Or les réactions chimiques responsables de la conversion de substrats carbonés en métabolites essentiels sont elles-mêmes complexes. Elles font souvent intervenir une cascade imposante de réactions enzymatiques, admettant un nombre élevé d'intermédiaires chimiques d'autant plus difficiles à caractériser qu'ils ne s'accumulent pas dans la cellule. Le marquage isotopique à l'aide du carbone 14 a permis, dans de nombreux cas, de préciser l'origine de tel ou tel atome de carbone présent dans le squelette chimique du métabolite final et la contribution de celui-ci à la formation des macromolécules. Mais cette technique s'est avérée assez lourde et peu informative en ce qui concerne l'identification des intermédiaires réactionnels. Là est intervenue, pour la première fois, la génétique. En effet, appliqué à l'étude des étapes biosynthétiques conduisant aux principaux métabolites chez les bactéries ou certains champignons inférieurs (ex. *Neurospora*), l'isolement de « mutants », bloqués à des stades très précis de leur processus biosynthétique, devait permettre, en quelques années, de décrire, dans leurs grandes lignes, les principales voies métaboliques à l'origine des 20 acides aminés constitutifs des protéines ou à celle des cinq bases nucléiques principales⁵.

5. Adénine, guanine, cytosine, thymine, uracile.

I.2. LA BIOLOGIE MOLÉCULAIRE ET SES RÉALISATIONS

I.2.1. LA BIOLOGIE MOLÉCULAIRE DU GÈNE (DOUBLE HÉLICE, EXPRESSION ET RÉGULATION GÉNÉTIQUES, LE « DOGME CENTRAL »)

S'attaquer à la synthèse des protéines et des acides nucléiques exigera l'élaboration de tout nouveaux concepts, ainsi que d'une méthodologie et de techniques originales. Il s'agira d'établir un pont entre des disciplines demeurées jusqu'alors étrangères l'une à l'autre telles que la biochimie, la génétique et la physico-chimie des macromolécules, en faisant souvent appel à des théories se rapportant à d'autres champs de la connaissance, telles que les théories de l'information.

Le nouveau « paradigme » (l'expression est de l'historien des sciences, T. Kuhn) dans lequel s'inscrit cet ensemble d'interrogations, de concepts et de techniques, est connu sous le nom de biologie moléculaire. De même que la découverte des enzymes et que le métabolisme énergétique ont alimenté les premiers concepts unificateurs dans les sciences du vivant, de même s'articulera, à partir des premières années 50, autour de la notion de gène en tant qu'entité fondamentale de l'hérédité, toute la construction de la biologie contemporaine.

● *ADN et double hélice*

On prête au physicien Erwin Schrödinger, d'avoir énoncé dans son ouvrage *What is Life ?* paru en 1946, l'idée que les fondements et principes de fonctionnement de la vie sont à rechercher dans les propriétés des grands polymères, ou macromolécules biologiques, protéines et acides nucléiques. En ce qui concerne les protéines, gageons que la communauté des biologistes n'avait guère de mal à adhérer à cette idée. Les enzymes sont des protéines,

les anticorps sont des protéines, les protéines sont les constituants majeurs des cellules, etc. Leur rôle apparaît même tellement central dans la vie cellulaire qu'il faudra un réel courage au pathologiste américain R.T. Avery pour affirmer, expériences à l'appui, que les gènes ne sont pas des protéines mais des acides nucléiques et que le matériel héréditaire est constitué par l'un d'entre eux, l'acide désoxyribonucléique (ADN), un biopolymère phosphoré isolé vers 1860 par le bâlois F. Miesher, à partir du sperme de saumon (et qui sera considéré, pendant des décennies, comme un constituant cellulaire quelque peu mystérieux, sinon incongru, au plan fonctionnel). Le mérite de Schrödinger est non seulement d'avoir soupçonné le rôle majeur des acides nucléiques dans la vie cellulaire mais, d'avoir jeté les bases d'une nouvelle biologie structurale, en montrant que la clé des plus importantes fonctions cellulaires résidait désormais dans la structure physico-chimique des macromolécules dans leurs propriétés et dans leurs interactions.

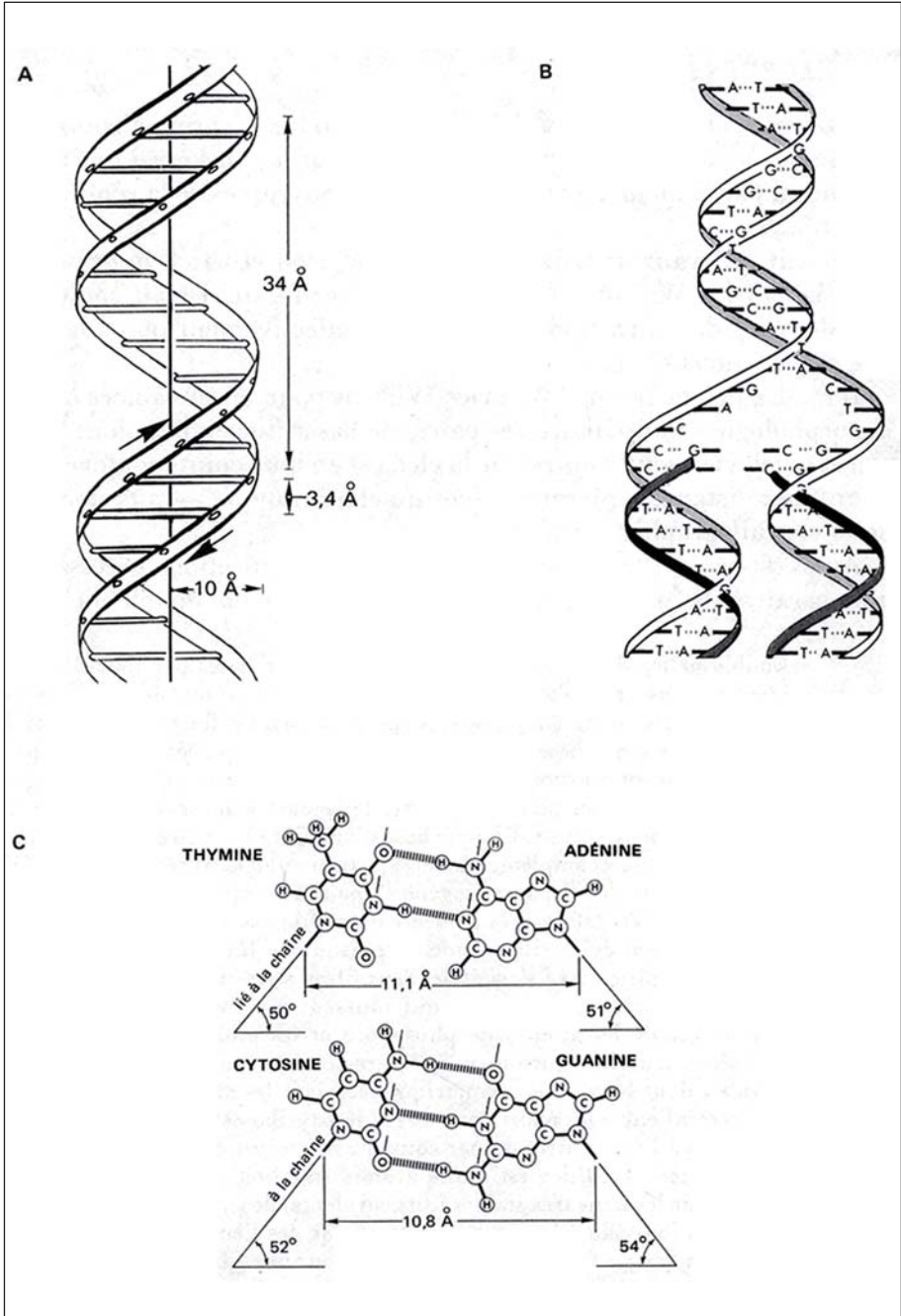
L'une des illustrations la plus spectaculaire de ce réductionnisme moléculaire, et la plus connue, est certes la découverte, en 1953, de la structure en double hélice de l'ADN par J.-D. Watson, F. Crick et M.H.F. Wilkins. Le fait que l'hélice soit double et que chacun des brins soit apparié à l'autre selon des lois de complémentarité parfaite (A-T ; G-C) grâce à des liaisons faibles, fournira les clés explicatives de la transmission héréditaire dans les cellules en division. Dans leur publication originale, d'ailleurs, Watson et Crick entrevoient déjà comment se déroule cette « répllication » de l'ADN dont les étapes sont la séparation de chacun des deux brins, leur distribution au sein des cellules-filles, suivie de la reconstitution d'une hélice double grâce aux lois d'appariements des bases AT, GC évoquées ci-dessus, laissant augurer de l'existence des enzymes responsables de ce réassemblage. La première ADN polymérase sera, en effet, découverte quelques années plus tard (A. Kornberg...) et, même

Fig. 1. *La double hélice d'ADN*

A/ C'est en 1953 que Watson, J.-D. et Crick, F.H., décrivent pour la première fois la structure cristalline en double hélice de l'ADN [Nature, 171, 737, (1953)]. La double hélice deviendra rapidement l'emblème de la biologie moléculaire.

B/ Réplication de la double hélice : noter la séparation des deux brins complémentaires et la reconstitution de deux hélices filles. Dans la cellule, le processus fait intervenir un ensemble complexe d'enzymes (réplicases, hélicases etc.) et de facteurs déstabilisant la structure en double brin.

C/ Principe d'appariements des couples de bases AT et GC, d'après Molecular Biology of the Gene, [(1965) p. 267, fig. 9-7 et p 132, fig. 4-14 – reproduit dans « les secrets du gène », François Gros, Éditions Odile Jacob (1986) p 63]. Les rôles cruciaux joués par Maurice Wilkins (prix Nobel, 1962 avec Watson et Crick) et par Rosalind Franklin (décédée en 1958) ne doivent pas être oubliés.



si, au fil des années et des expériences, il allait s'avérer que la réplication de l'ADN relève d'une machinerie enzymatique beaucoup plus complexe, *in vivo* (topoisomérases, ADN ligases, etc.), la découverte de Kornberg devait démontrer, pour la première fois, qu'un processus de biosynthèse macromoléculaire peut se dérouler « à l'extérieur » de la cellule. Tenter de reproduire *in vitro*, certaines des réactions clés du chimisme cellulaire deviendra désormais une des approches privilégiées de la biologie moléculaire.

Si la caractérisation de la structure de l'ADN constitue le premier apport majeur de la biologie moléculaire, issue d'ailleurs du travail des cristallographes, l'étude des protéines va bénéficier à son tour des techniques physico-chimiques liées en grande partie, elles aussi, à l'analyse cristallographique. C'est ainsi que les travaux de L. Pauling (le découvreur de la structure en α hélice) suivis, quelques années plus tard, par les études cristallographiques de M. Perutz et J. Kendrew, conduiront aux premiers modèles tridimensionnels des protéines (fibreuse et globulaire) apportant des éclairages entièrement neufs quant à la représentation physico-chimique du site actif des enzymes, de l'allostérie (Monod, Wyman, Changeux) ou des interactions « antigènes-anticorps ».

- *Fonction des gènes et régulation (premiers concepts)*

Mais la grande inconnue, celle à laquelle aimerait s'attaquer la biologie moléculaire à partir de la fin des années 50, c'est le mode de fonctionnement des gènes dont l'étude avait été esquissée quelques années auparavant en analysant les effets des mutations sur certaines caractéristiques de la mouche du vinaigre (la fameuse drosophile), du champignon *Neurospora* et, plus tard, des bactéries et des bactériophages.

Déjà, vers la fin des années 40, certains généticiens américains (Beadle et Tatum), et en France, B. Ephrussi et P. Lheritier, s'interrogeaient sur le mode d'action des gènes au niveau moléculaire, créant ainsi une nouvelle branche de la génétique qu'ils baptisèrent « génétique physiologique ». Dans un raccourci qui allait frapper tous les scientifiques de cette époque, Beadle et Tatum énoncèrent alors leur fameuse équation : « *un gène, un(e) enzyme* ». Si cette vision s'avère aujourd'hui inexacte (un gène peut déterminer plusieurs protéines ; certains gènes codent pour des acides nucléiques, etc.) elle eut l'énorme mérite de poser néanmoins le vrai problème : les gènes, le plus souvent, gouvernent dans la cellule la formation des protéines, ce qui constitue la base explicative la plus simple de l'effet des mutations, sachant que nombre de protéines sont des enzymes intervenant dans le métabolisme dont l'altération peut entraîner la modification d'un caractère lié à la morphologie, à la croissance ou à la survie d'un organisme vivant. Se trouvait ainsi établi un lien entre la génétique classique (G. Mendel, T. Morgan) et la biochimie.

La biologie allait pouvoir s'attaquer aux relations « gènes-protéines » en posant désormais le problème en termes moléculaires précis, ceux correspondant au transfert d'information entre ADN et protéines.

Cette nouvelle biologie moléculaire du gène allait s'avérer, en effet, d'une extraordinaire fécondité. On lui doit d'avoir élucidé, dans un laps de temps très court, la nature du code génétique et les diverses étapes biochimiques intervenant dans les deux « lectures » successives du « code » inscrit dans l'ADN : la transposition du code chimique de l'ADN en acide ribonucléique (ARN) – étape appelée transcription – puis, à partir de cet « intermédiaire-ARN », la formation d'une protéine, ou traduction. De surcroît, les travaux des biologistes de l'Institut Pasteur, ceux notamment de F. Jacob et J. Monod, allaient introduire un concept d'une portée considérable dans la compréhension du vivant, en démontrant que les milliers de gènes présents dans la cellule (par exemple chez une bactérie), sont transcrits et traduits selon un programme défini reflétant non seulement la nécessaire coordination et intrication des innombrables réactions du métabolisme et du développement cellulaire, mais aussi l'adaptation physiologique de la cellule à son milieu. En d'autres termes, était mis en avant, pour la première fois, le concept de régulation cellulaire, régulation pouvant être « positive » (activation des gènes) ou « négative » (répression), en fonction des influences du milieu externe mais aussi (chez les organismes supérieurs) en fonction de l'état de développement des tissus.

Avant de revenir, schématiquement, sur ces grandes percées effectuées dans l'étude du vivant par la biologie moléculaire, principalement entre le début des années 60 et celui des années 80, une remarque liminaire s'impose. C'est en ayant recours, dans la grande majorité des cas, aux modèles biologiques que constituent les bactéries et leurs virus (les bactériophages) qu'ont été élucidées les étapes clés du transfert de l'information génétique et de sa régulation. Or, lorsque les biologistes se sont tournés vers l'étude de ces phénomènes, chez les organismes supérieurs, on s'est aperçu que, si les schémas résultant de l'étude des bactéries étaient, en gros, applicables aux organismes eucaryotiques, les mécanismes en jeu chez ceux-ci n'en étaient pas moins infiniment plus complexes. Il devait notamment s'avérer que certaines caractéristiques structurelles (gènes morcelés, séquences régulatrices au niveau de l'ADN, conformation de l'ADN au sein des chromosomes) ou fonctionnelles (épissage, phénomènes d'interférence, régulation post-transcriptionnelle, transcription inversée, etc.) étaient l'apanage exclusif des organismes évolués, dits eucaryotiques¹.

1. Voir notamment le chapitre I.4 intitulé « La complexité du matériel génétique chez les organismes supérieurs ».

I.2.2. Le code génétique – Le transfert de l'information génétique : transcription et traduction

Ainsi que nous l'avons déjà souligné, le principal défi qui, dans le milieu des années 60, se présente aux biologistes moléculaires, est d'élucider le « passage » de « l'information », de l'ADN aux protéines, à travers ces deux étapes essentielles que sont la transcription de l'ADN en ARN et la traduction qui convertit l'information ainsi transposée dans cet intermédiaire ARN, (plus tard désigné sous le nom d'ARN messenger (cf. *infra*)) aboutissant au produit final que constitue la protéine. On réalise, toutefois assez tôt, qu'avant toute chose, il convient de comprendre en quoi consiste précisément « l'information », ainsi contenue dans les acides nucléiques ! Résoudre ce problème, celui du code génétique, c'est, à coup sûr, dévoiler l'un des grands « secrets de la vie » comme se plairont à le souligner, mi-ironiques, mi-sérieux, nombre de biologistes !

Le mérite du physicien G.A. Gamow (1904-1968) est d'avoir compris que l'information génétique réside dans la séquence chimique, c'est-à-dire dans l'ordre d'assemblage des chaînons élémentaires qui, tels des lettres au sein

Fig. 2. Principales étapes de l'expression d'un gène (cas d'une cellule procaryotique)

A) L'un des deux brins de la double hélice d'ADN est copié par une enzyme (ARN polymérase, ADN-dépendante) en une chaîne continue d'ARN. Cette opération débute au niveau d'une séquence spéciale appelée « promoteur », et s'achève en un site terminaison. Avant le détachement de la chaîne d'ARN, débute au niveau d'un site initiateur (ex : AUG) l'attachement d'un ribosome et l'élongation de la chaîne polypeptidique. Le déplacement des premiers ribosomes fixés vers la séquence terminale de l'ARN messenger (ici, UAA) permet l'attachement d'autres ribosomes. On donne à la structure dynamique de l'ARN « parcours » par un train de ribosomes en déplacement le nom de « polyribosome » (A. Rich).

Le ribosome d'une cellule d'organisme procaryotique est un organite complexe formé de 2 sous-unités dissociables. Le polypeptide adopte une conformation tridimensionnelle avant la fin de son élongation après quoi il se détache et acquiert sa configuration définitive.

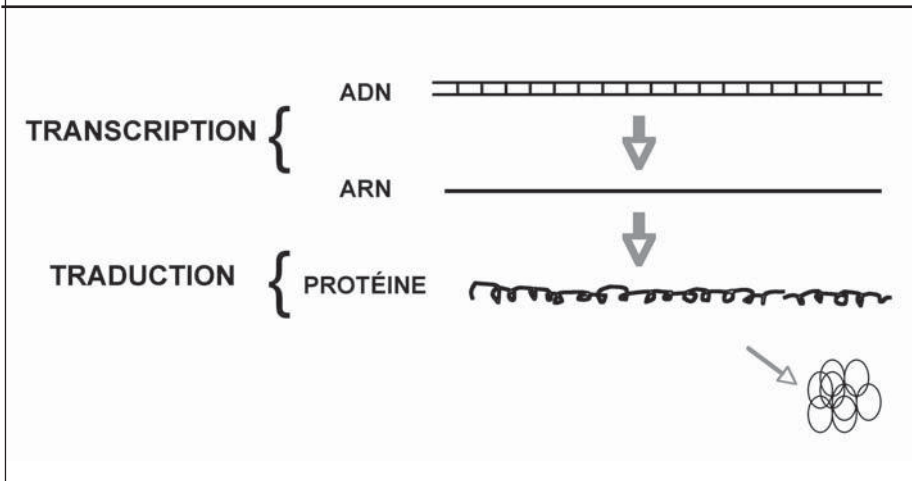
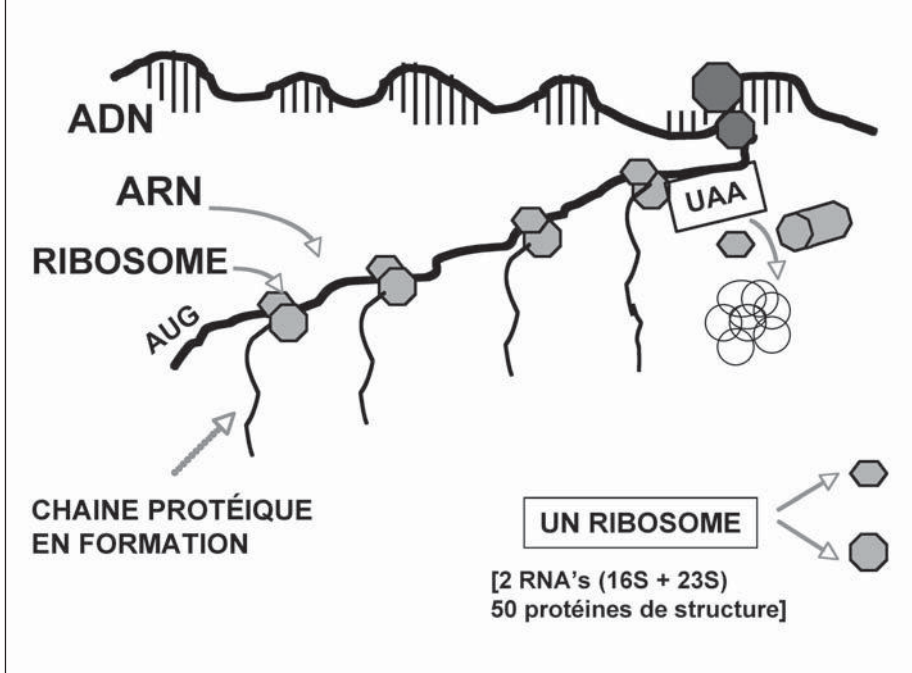
B) L'ensemble des processus, décrits en A, peut être ramené de façon simplifiée à 2 grandes étapes :

i) La transcription : ou copiage de l'ADN (double brin) en un ARN (simple brin).

ii) La traduction : opération au cours de laquelle, l'ARN « messenger » sert de matrice à la formation d'une protéine.

La situation décrite ici s'applique au cas d'un gène codant une protéine. Certains gènes sont copiés en des ARN non-messagers. Ceux-ci ne sont pas « traduits », mais peuvent exercer diverses fonctions dans la cellule (m-RNA's, t-RNA's, si-RNA's, mi-RNA's, etc. pour plus de détails se rapporter au chapitre « le monde de l'ARN »).

LES PRINCIPALES ÉTAPES DE L'EXPRESSION GÉNÉTIQUE



d'une phrase, sont reliés les uns aux autres pour constituer chacun des brins de la double hélice. Les biologistes Francis Crick et Sydney Brenner complèteront brillamment la proposition, en montrant que tout revient à comprendre comment un enchaînement de quatre « motifs » – les quatre bases A, T, G, C qui se trouvent alignées dans la molécule d'ADN – peut coder un enchaînement de vingt « motifs » protéiques, à savoir les vingt types d'acides aminés qui figurent dans l'ensemble des protéines connues. Le calcul démontra que des combinaisons binaires de bases nucléiques seraient en trop petit nombre ($4^2 = 16$), tandis que des combinaisons ternaires ($4^3 = 64$) satisfont le prérequis en supposant qu'il existe en moyenne trois combinaisons ternaires, ou « triplets » par acide aminé. Crick et Brenner, dans des expériences très élégantes, étayeront expérimentalement ces prévisions : le code génétique est donc un code « à triplets ». La cellule « lit », en quelque sorte, la séquence de l'ADN en commençant à une extrémité particulière de la chaîne, mais de manière dite « non-chevauchante » et sans virgule (!) de sorte qu'il n'y a pas d'ambiguïté dans le mode d'enchaînement des acides aminés.

On le voit, le code n'est pas biunivoque (il existe davantage qu'un seul triplet en moyenne par acide aminé). Dans le langage cryptographique on dit que le code est « dégénéré ». Si les fondements du code génétique sont ainsi établis, il demeure nécessaire désormais d'élucider sa nature chimique, c'est-à-dire de préciser quels triplets, parmi les 64 possibles, correspondent à quels amino-acides. Une question d'un autre ordre demeure également : quelle est la nature de « l'intermédiaire ARN » dont la séquence, reflétant celle de l'ADN, sert de matrice à l'assemblage des chaînes protéiques.

● *L'ARN messenger et le code génétique*

En 1961, deux groupes de chercheurs, l'un travaillant à Pasadena (S. Brenner, F. Jacob et M. Meselson), l'autre à Harvard (F. Gros, J.-D. Watson et coll.) établiront la nature de l'intermédiaire ou, si l'on préfère, celle de l'ARN messenger servant de matrice à l'assemblage des chaînes polypeptidiques. Chez les bactéries et les bactériophages (où le « messenger » fut identifié pour la première fois), il s'agit d'une chaîne d'acide ribonucléique dont la composition en bases et la séquence, reflète fidèlement, celle de l'un des deux brins de l'ADN². Peu après la découverte de l'ARN messenger, produit de transcription

2. L'ARN messenger est donc capable de former expérimentalement un hétéropolymère hybride, ADN : ARN, dans lequel les bases de chacune des deux chaînes sont intégralement appariées (B. Hall et S. Spiegelman) ; sa durée de vie moyenne dans la cellule est brève, de l'ordre de quelques minutes. L'ARN messenger, empreinte moléculaire de l'ADN, est donc la véritable matrice informative au niveau de laquelle s'alignent l'un après l'autre les acides aminés grâce à l'établissement de liaisons chimiques covalentes (liaisons peptidiques) tissant en quelque sorte la longue chaîne polypeptidique, arête dorsale de la protéine.

primaire de l'ADN, seront découvertes les enzymes responsables de cette transcription, enzymes appelées ARN polymérasas ou, encore, « transcriptions » (S. Weiss, G. Hurwitz).

La nature chimique du code génétique fut déterminée en un laps de temps record, grâce à l'utilisation de polymères artificiels, sortes de polyribonucléotides, ne renfermant qu'une seule base ou comprenant des combinaisons de bases plus nombreuses mais expérimentalement déterminées, polymères dont les biochimistes, M. Grunberg-Manago et S. Ochoa, avaient préalablement caractérisé l'enzyme de biosynthèse, la polynucléotide phosphorylase. La nature du code génétique fut donc décryptée à la suite d'une série d'expériences mettant en œuvre ces matrices artificielles (M. Nierenberg et Mathaei, S. Ochoa et A. Wabba). Il s'avéra que 61 des 64 triplets possibles sont « signifiants », c'est-à-dire qu'il correspond un acide aminé particulier à chacun d'entre eux ; quant aux trois triplets restants, on put établir leur rôle en tant qu'éléments de « ponctuation », c'est-à-dire agissant en tant que signaux chimiques, soit pour le démarrage (initiation) de l'assemblage des chaînes polypeptidiques (cas des triplets AUG, ou GUG), soit comme signaux d'arrêt et de détachement de la chaîne polypeptidique en terminaison d'assemblage (triplets UAA et UAG). Par la suite, on put démontrer que le code génétique est universel : les mêmes combinaisons chimiques sont utilisées chez tous les êtres vivants, de la bactérie à l'homme.

La découverte du code génétique et de son « universalité » qui fut réalisée dans les débuts des années 60, peut donc être considérée, à juste titre, non seulement comme l'une des réalisations majeures de la biologie moléculaire mais aussi comme l'un des plus grands succès scientifiques du xx^e siècle. L'universalité du code devait, d'une certaine manière préfigurer le développement quasi explosif des expériences de transgénèse consécutives à celui du génie génétique dont il sera question un peu plus loin.

● *Synthèse des protéines*

Ayant examiné comment le code d'assemblage des acides aminés avait été découvert, tournons-nous, à nouveau, vers cette étape capitale dans le fonctionnement de l'usine cellulaire qu'est la « traduction génétique ». Étape capitale, en effet, car elle recouvre toute la mécanique autant que la « machinerie » responsables de la formation des protéines. Pour en comprendre le déroulement, les biologistes ont dû faire appel à des approches théoriques et expérimentales variées. La synthèse d'une protéine requiert, en effet, une matrice d'alignement des acides aminés qui soit capable de coder leur « positionnement » successif face aux codons présents dans l'ARN messenger avant leur raccordement chimique par formation de liaisons peptidiques.

Une telle matrice informative (« *template* » en anglais) n'est autre que l'ARN messager (cf. *supra*). Toutefois l'élongation, sorte de tissage progressif, de la chaîne protéique en formation au contact de cet ARN requiert l'équivalent d'une « tête de lecture ». Celle-ci est constituée par un organite complexe, le ribosome. Son rôle consiste à se déplacer graduellement tout au long de l'ARN messager à la manière « d'un train à crémaillère » en disposant, en regard de chaque triplet nucléotidique (chaque codon), l'acide aminé qui correspond à celui-ci selon les règles du code génétique. Une chaîne polypeptidique se trouve ainsi tissée peu à peu (étape d'élongation). Parvenu au niveau d'un codon stop (UAA, UGA), le ribosome se détache de l'ARN messager et libère la chaîne polypeptidique complétée qui y demeurerait attachée. Celle-ci adopte spontanément un mode de repliement (structure tridimensionnelle caractéristique) de la protéine considérée (C. Anfinsen).

Ce processus de traduction génétique, démarre donc en un site très précis de la chaîne d'ARN messager appelé « codon initiateur » (il s'agit du codon AUG, ou GUG). Des facteurs protéiques particuliers, appelés facteurs d'initiation (M. Revel et F. Gros) assurent la « reconnaissance » par le ribosome de ce site particulier. Ainsi la traduction ARN-protéine est-elle parfaitement délimitée par les éléments de ponctuation que sont les codons initiateurs et les codons de terminaison. L'ensemble du processus requiert de l'énergie ; celle-ci provient de l'hydrolyse d'un composé particulier voisin de l'ATP, l'acide guanosine triphosphorique, ou GTP. Mais la lecture de l'ARN messager et sa traduction en protéine, ne seraient guère possibles dans l'hypothèse où chaque acide aminé devait se fixer « directement » en regard du codon correspondant. En effet, les acides aminés ont des structures moléculaires différentes : les radicaux qui les individualisent n'occupent donc pas les mêmes dimensions dans l'espace et l'encombrement stérique qui en résulterait, constituerait un obstacle à un alignement propice au tissage régulier de la chaîne polypeptidique en croissance.

Dans le milieu des années 50, la solution de ce problème a été apportée par les travaux des biologistes moléculaires P. Zamecick, M. Hoagland et surtout Francis Crick.

En bref, le « positionnement » séquentiel des acides aminés face à chacun de leur codon, opération qui nous l'avons vu se déroule à l'interface du ribosome et de ce codon, est réalisée grâce à un « adapteur » particulier porteur de l'acide aminé en son extrémité. À chaque acide aminé correspond un adapteur spécifique. Il s'agit d'un petit ARN, appelé « ARN de transfert » ou t-ARN, dont la configuration spatiale ressemble à une feuille de trèfle. L'une des extrémités de l'adapteur ARN – en réalité une courte séquence appelée

« anti-codon », est complémentaire de celle du codon de l'ARN messager ce qui lui permet de s'y appairer, tandis qu'à une autre extrémité se trouve fixé l'acide aminé que spécifie le codon du « messenger ». L'attachement de l'acide aminé à son ARN de transfert est réalisé par une enzyme, une amino-acyl-ARN synthétase (appelée également enzyme d'activation) spécifique à la fois de l'acide aminé et de son adaptateur. Ainsi, à chacun des 20 acides aminés correspond une enzyme d'attachement à un t-ARN, lui-même spécifique et capable de reconnaître le codon propre à cet acide aminé.

L'extraordinaire précision mais également la grande complexité des systèmes de traduction génétique, lesquels fonctionnent avec une très faible marge d'erreur, soulèvent d'intéressants problèmes en termes d'évolution moléculaire. On est en droit de se demander comment un ensemble fonctionnel aussi ajusté a pu être sélectionné au plan évolutif. Quel type d'évolution concertée a été mis en œuvre, tel que les gènes codant pour les ARN de transfert et ceux des amino-acyles RNA synthétases ont pu acquérir une spécificité dirigée vers le même amino-acide ? Divers spécialistes de la chimie prébiotique ont d'ailleurs proposé qu'à l'origine existaient, sans doute, des mécanismes de reconnaissance « directe » entre ARN et amino-acides.

I.2.3. RÉGULATION DES GÈNES – LE RÉPRESSEUR – L'OPÉRON LACTOSE

À ce tableau d'ensemble des grandes fonctions de la cellule que dépeignent les scientifiques dans la première phase de la biologie moléculaire, manque, nous l'avons déjà souligné, un éclairage capital. En effet, la physiologie cellulaire est d'une grande plasticité. Une cellule bactérienne ne fabriquera pas les mêmes enzymes selon la composition de son milieu de culture ; une cellule au sein du tissu ou organe différencié d'un animal ou d'une plante synthétisera et accumulera de façon prépondérante certaines protéines spécifiques du tissu ou de l'organe considérés et ce régime de synthèse protéique pourra varier sensiblement au cours du développement. En d'autres termes, doivent exister des mécanismes de régulation qui modulent, occultent ou activent certains gènes en fonction des conditions imposées par le milieu externe (bactéries) ou par la différenciation des tissus (organismes eucaryotiques).

C'est dans le début des années 60 qu'a été proposé par J. Monod et F. Jacob, un schéma d'ensemble, celui de la régulation négative et de l'opéron, mettant en lumière, pour la première fois, l'existence d'une « boucle » de régulation génétique chez un organisme vivant, la bactérie *E. coli*.

À l'issue d'une suite logique d'observations relatives à la croissance de cette bactérie en présence de deux sources de carbone (glucose et lactose), les recherches des chercheurs pasteurien devaient déboucher sur la mise en évidence du phénomène d'adaptation à l'utilisation du lactose en démontrant que cette adaptation métabolique repose sur la néosynthèse d'une enzyme impliquée dans ce métabolisme, la β -galactosidase. Monod, Jacob et leurs collaborateurs aboutirent ainsi, après une succession de travaux, au schéma connu sous le nom « d'induction de l'opéron lactose ». Il put être établi que le lactose, ou un analogue chimique de ce sucre, agit comme un « inducteur » capable de lever l'effet négatif d'un « répresseur » verrouillant, de façon permanente, l'activité transcriptionnelle des gènes intervenant, chez *E. coli*, dans le métabolisme de ce substrat (ou de sucres apparentés). En d'autres termes, les travaux des chercheurs français ont permis de démontrer que, dans la plupart des cas, chez les bactéries tout au moins, de nombreux gènes responsables du métabolisme général demeurent « silencieux » en l'absence des facteurs du milieu agissant comme inducteurs. L'étude du « système lactose » sera peu à peu complétée à la faveur d'expériences génétiques. Le répresseur sera isolé, quelques années plus tard, par W. Gilbert et B. Müller Hill. Il s'agit d'une protéine capable d'inhiber la transcription des trois gènes clés du métabolisme des β -galactosides : la β -galactosidase, la galactoside perméase et la galactoside acétylase. Ces trois gènes ont une disposition contiguë sur le chromosome et leur transcription (après induction) démarre de façon unidirectionnelle en un site précis le « promoteur », en amont de cette triade. Lorsque l'inducteur est absent, le répresseur se fixe, avec une grande affinité, en un site voisin du promoteur, appelé « opérateur ». Cela empêche l'attachement de l'ARN-polymérase à ce promoteur, inhibant ainsi la transcription unidirectionnelle des trois gènes adjacents sur le chromosome. Le nom d'opéron a été attribué à l'ensemble des gènes responsables d'une fonction métabolique donnée lorsqu'ils sont topologiquement contigus. On parle ainsi de l'opéron « lactose ». En présence d'un inducteur (lactose ou certains de ses analogues chimiques), le répresseur subit une transformation allostérique et se détache de l'opérateur laissant le champ libre à la polymérase responsable de la cotranscription de l'opéron.

Dans la présentation généralisée de leurs travaux, en 1960, Monod et Jacob ont donc postulé l'existence de deux catégories de gènes : les « gènes régulateurs », codant pour des agents exerçant un contrôle négatif sur les gènes « classiques », encore dénommés « gènes de structure », parce qu'ils déterminent la synthèse des enzymes ou des protéines dotées d'autres fonctions. La découverte de ces deux catégories de gènes et de leur présence chez tous les organismes vivants, y compris dans le règne eucaryotique, a donc ouvert un chapitre fondamental et entièrement neuf de la biologie. Toutefois,

tandis que dans les débuts de leurs travaux, Monod et Jacob pensaient que le contrôle exercé par les gènes régulateurs est (toujours) à caractère « négatif » (répression-dérépression), il allait s'avérer par la suite que de nombreux gènes appartenant à des opérons bactériens (ex. : opéron « arabinose », ou maltose) obéissent à une régulation « positive ». Entendons par là que leur co-transcription dépend d'un facteur protéique activé, cette fois, par un métabolite exogène. Par la suite, lorsqu'il deviendra possible aux biologistes d'accéder à l'étude des gènes d'organismes supérieurs, on constatera que leur activité obéit également, et le plus souvent, à un contrôle positif. De surcroît d'ailleurs, ces gènes eucaryotiques ne sont jamais, ou presque jamais, organisés en opérons, contrairement à ce qui s'observe chez les bactéries (cf. *infra*). Il n'en demeure pas moins que les concepts de gènes régulateurs et de gènes de structure sont parfaitement transposables aux processus de régulation chez les « eucaryotes » et qu'il existe donc, de manière générale, une hiérarchie fonctionnelle au sein du matériel génétique.

I.2.4. LE DOGME CENTRAL DE LA BIOLOGIE MOLÉCULAIRE

On peut donc dire que, vers le milieu des années 70, l'approche moléculaire de la biologie se sera soldée par une étonnante moisson de découvertes ! En effet, les principales fonctions reproductrices et biosynthétiques de la cellule sont dès lors expliquées. Les biologistes peuvent caresser l'illusion que l'essentiel a été dit dans la quête des solutions des grandes énigmes cellulaires. Deux aphorismes semblent bien décrire cet état d'esprit, cette apparente certitude. Le premier, mi-ironique, mi-sérieux repose sur l'idée que toute la biologie se résume à une sorte de dogme central désormais dévoilé, un dogme qui semble inébranlable et qui revêt la forme d'une équation lapidaire : « ADN → ARN → protéines » impliquant que le flux d'informations est unidirectionnel. Le second, d'un tout autre ordre, certes, mais non moins révélateur d'un sentiment, quelque peu triomphaliste, s'exprime par une boutade se rapportant à l'universalité et à l'exhaustivité des découvertes biologiques. Selon cette boutade, chère à de nombreux biologistes moléculaires de l'époque, notamment au grand scientifique Jacques Monod : « ce qui est vrai pour *E. coli* est vrai pour l'éléphant ».

Le fameux « dogme central » de la biologie moléculaire, s'il demeure vrai dans ses grandes lignes, allait connaître une exception capitale lorsque, vers 1975, Baltimore et Termin, étudiant le cycle de reproduction de certains rétrovirus observèrent, pour la première fois, que l'information génétique s'écoule de l'ARN vers l'ADN, sous l'effet d'une « transcriptase inverse ». Plus tard, on se rendra compte que cette rétrotranscription est également observée

dans l'environnement cellulaire lui-même (rétrotransposons). L'aptitude que possèdent donc aujourd'hui certains systèmes vivants à copier une séquence ARN en une séquence ADN se serait d'ailleurs manifestée très tôt, à l'ère prébiotique selon certains, faisant de l'ARN (et non de l'ADN) la première molécule informative. Quant à la « boutade » voulant que l'essentiel ait été dit à travers la biologie moléculaire d'*E. coli*, l'avenir, là encore, ne manquera pas de lui infliger un démenti lorsque, grâce au génie génétique, la nature et le fonctionnement des gènes des organismes supérieurs deviendront accessibles à l'expérimentateur.

I.3. GÉNIE GÉNÉTIQUE – CONSÉQUENCES À CARACTÈRE FONDAMENTAL – APPLICATIONS

I.3.1. GÉNIE GÉNÉTIQUE – DÉCOUVERTE – BIOLOGIE DES ORGANISMES SUPÉRIEURS

La découverte, le développement et les applications du génie génétique représentent une rupture épistémologique majeure dans l'Histoire de la biologie moderne. Cela pour de multiples raisons. La plus importante, au plan fondamental, est que cette technologie introduite par Berg, Chang et Boyer dans les débuts des années 70, va désormais permettre la purification et l'isolement systématique des gènes provenant des organismes supérieurs, ce qui était pratiquement impossible jusqu'alors. En effet, et pour décrire les choses très schématiquement, cette technique fait intervenir en premier lieu un découpage de l'ADN isolé de la cellule eucaryotique par des nucléases très particulières, les enzymes de restriction (W. Arber), clivant la molécule d'ADN au niveau de séquences extrêmement précises. Les morceaux obtenus sont ensuite « recombinés » *in vitro*, grâce à des enzymes de soudure, appelées « ligases », avec des ADN « vecteurs ». Ces derniers consistent, le plus souvent, en des plasmides bactériens, petits ADN circulaires ayant la propriété de se transférer (transfection) à l'intérieur de cellules bactériennes-hôtes en s'intégrant dans leur ADN. L'expérimentateur procède de telle sorte que chaque bactérie réceptrice n'intègre, en moyenne, qu'un exemplaire unique du recombinant « plasmide – morceau d'ADN ». Chaque bactérie, ainsi transfectée, est ensemencée en milieu solide. Elle produit sur place, après divisions, une colonie (un clone), formée de bactéries rigoureusement identiques entre elles et à la bactérie fondatrice, et comportant le même fragment d'ADN eucaryotique. On repère ensuite le fragment ainsi

amplifié dans chacun des clones, grâce à un procédé d'hybridation *in situ*, au moyen d'une sonde moléculaire appropriée (généralement un ADN complémentaire radioactif). Les bactéries qui constituent ce clone sont alors cultivées sur une grande échelle, l'ADN total en est extrait ; il contient, dans sa séquence, le gène eucaryotique particulier auquel on porte intérêt. Il suffit alors de détacher celui-ci des séquences ADN du plasmide qui l'entourent, grâce aux enzymes de restriction.

Cette opération est généralement décrite sous le nom de « clonage ». Dans le jargon utilisé par les biologistes, on parlera par exemple du « clonage du gène de l'albumine », ou dans une expression plus contractée, du « clonage de l'albumine ». Le clonage permet d'assurer, (par définition), une purification totale de pratiquement n'importe quel gène, qu'il soit d'origine procaryotique (bactéries, algues inférieures) ou eucaryotique (animaux, plantes, champignons). Nous verrons peu après quelles ont été les conséquences théoriques qui en ont résulté pour ce qui concerne l'arrangement moléculaire des gènes présents chez les organismes supérieurs.

Un autre bouleversement profond, conceptuel autant que méthodologique, consécutif à l'essor du génie génétique a été la possibilité de transférer un gène purifié par clonage et provenant d'une espèce ou d'un règne vivant défini, au sein de cellules ou d'organismes entiers appartenant à une espèce ou un règne biologiques différents. L'opération a été baptisée « transgènese », elle est à l'origine des organismes génétiquement modifiés, les fameux OGM, utilisés sur une vaste échelle dans divers pays et plus ou moins considérés avec réserve dans d'autres (voir chapitre II.2.3 consacré aux OGM). Avec la transgènese, la génétique va accroître considérablement son pouvoir d'intervention sur les êtres vivants tant en médecine qu'en agriculture et renouveler ainsi d'une manière générale les biotechnologies.

Tandis que, de la biologie moléculaire du gène (telle qu'elle s'est développée grâce au modèle des micro-organismes, la bactérie *E. coli* pour l'essentiel), se dégageait jusqu'alors l'image d'une suite remarquablement logique de réalisations et de concepts, issus pour une bonne part, de la théorie de l'information et de la cybernétique, l'étude des gènes d'organismes supérieurs allait révéler des particularités totalement imprévisibles ! La « logique du vivant » (le terme est de François Jacob) nous réserve souvent bien des surprises.

Gageons, en effet, que bien peu de biologistes moléculaires de la première vague auraient imaginé que les gènes « eucaryotiques » pouvaient être formés différemment de ceux des bactéries, c'est-à-dire par des séquences

ou segments discontinus à l'intérieur de la longue chaîne d'ADN présente dans les chromosomes. Cette représentation apparaissait d'autant moins plausible que certains biologistes (Dintzis, S. Brenner) avaient mis en lumière l'existence d'une colinéarité stricte entre ADN et protéine... une mutation ponctuelle dans l'ADN entraînant le changement d'un seul amino-acide en un point défini de la chaîne protéique correspondante.

I.3.2. EXONS-INTRONS

L'étonnement fut donc grand lorsque le chercheur américain P. Sharp, et à sa suite des biologistes tels que P. Chambon et Ph. Kourilsky réussirent à montrer, que les gènes présents dans les cellules d'un organisme animal par exemple, sont des « mosaïques ». Dans la plupart des cas, en effet, ils sont constitués par des segments « codants », les exons, que relient entre eux des segments d'ADN non codants, les introns. Cette organisation en « mosaïque » est d'autant plus étonnante que la longueur des introns peut varier considérablement, les règles présidant à la localisation et au nombre des introns demeurant partiellement inconnues. Les gènes bactériens ne comportent pas d'introns ; ceux des Archebactéries, organismes appartenant à un chaînon de l'évolution, intermédiaire entre celui des bactéries « classiques » (eubactéries) et celui des organismes eucaryotiques, renferment parfois des introns comme ces derniers. L'hypothèse qui prédomine aujourd'hui veut que la cellule bactérienne, apparue très tôt au cours de l'évolution (2,5 à 3 milliards d'années) contenait sans doute des introns dans son génome mais que ceux-ci auraient été éliminés lors des innombrables divisions ayant accompagné cette évolution.

Des chercheurs, comme Walter Gilbert, ont d'ailleurs fourni une théorie séduisante pour rendre compte de l'existence des gènes en mosaïque : les premiers éléments de codage apparus au cours de l'évolution devaient précisément être de très courtes séquences d'ADN auxquelles correspondaient des petits peptides, ayant des activités catalytiques limitées. Par la réunion de ces « modules » auraient pu se former des polypeptides plus longs, puis des protéines douées d'une structure tridimensionnelle compatible avec des fonctions enzymatiques variées.

Face à la découverte des gènes en mosaïque, les biologistes furent confrontés à la question suivante : Comment la séquence d'un gène aux modules de codage discontinus pouvait-elle être transposée en une séquence continue d'ARN messenger, de séquence colinéaire à celle de la protéine correspondante ?

I.3.3. ÉPISSAGE

Le phénomène qui en rend compte a été dénommé « épissage » (« *splicing* » en anglais). Dans un premier temps les gènes nucléaires discontinus sont transcrits sur toute leur longueur. La copie ARN ainsi obtenue comprend donc des séquences complémentaires des exons reliées à des séquences complémentaires des introns. Le transcrit mosaïque est alors transporté du noyau vers le cytoplasme et les séquences d'ARN correspondant aux introns sont éliminées en même temps que se trouvent raccordées, les unes aux autres, les portions transcrites complémentaires des seuls exons. Ce processus est catalysé par des organites cellulaires assez complexes, les spliceosomes, constitués eux-mêmes par un ensemble de protéines et d'ARN particuliers. Ainsi se forme une chaîne d'ARN messenger d'un seul tenant à partir d'un gène-mosaïque et l'on retombe ainsi, si l'on peut dire, sur une situation où les informations de l'ARN messenger et de la protéine sont colinéaires !

La découverte de ce singulier mécanisme allait, à son tour, déboucher sur deux observations capitales :

En premier lieu, il apparut que l'on était en présence d'un mécanisme de régulation post-transcriptionnelle très répandu chez les organismes eucaryotiques : il s'agit de l'épissage alternatif. En effet, selon les stades du développement d'un tissu, parfois aussi selon les facteurs de signalisation mis en jeu, la nature des séquences ARN transcrites à partir des exons et réunies par

Fig. 3. Schéma simplifié montrant les étapes de l'expression génétique chez un organisme eucaryotique

On voit un gène composé de régions codantes de l'ADN, appelées « exons », et reliées par des « intercalaires » (généralement « non codants ») les « introns ». (Ici, le gène comprend 4 exons et 3 introns).

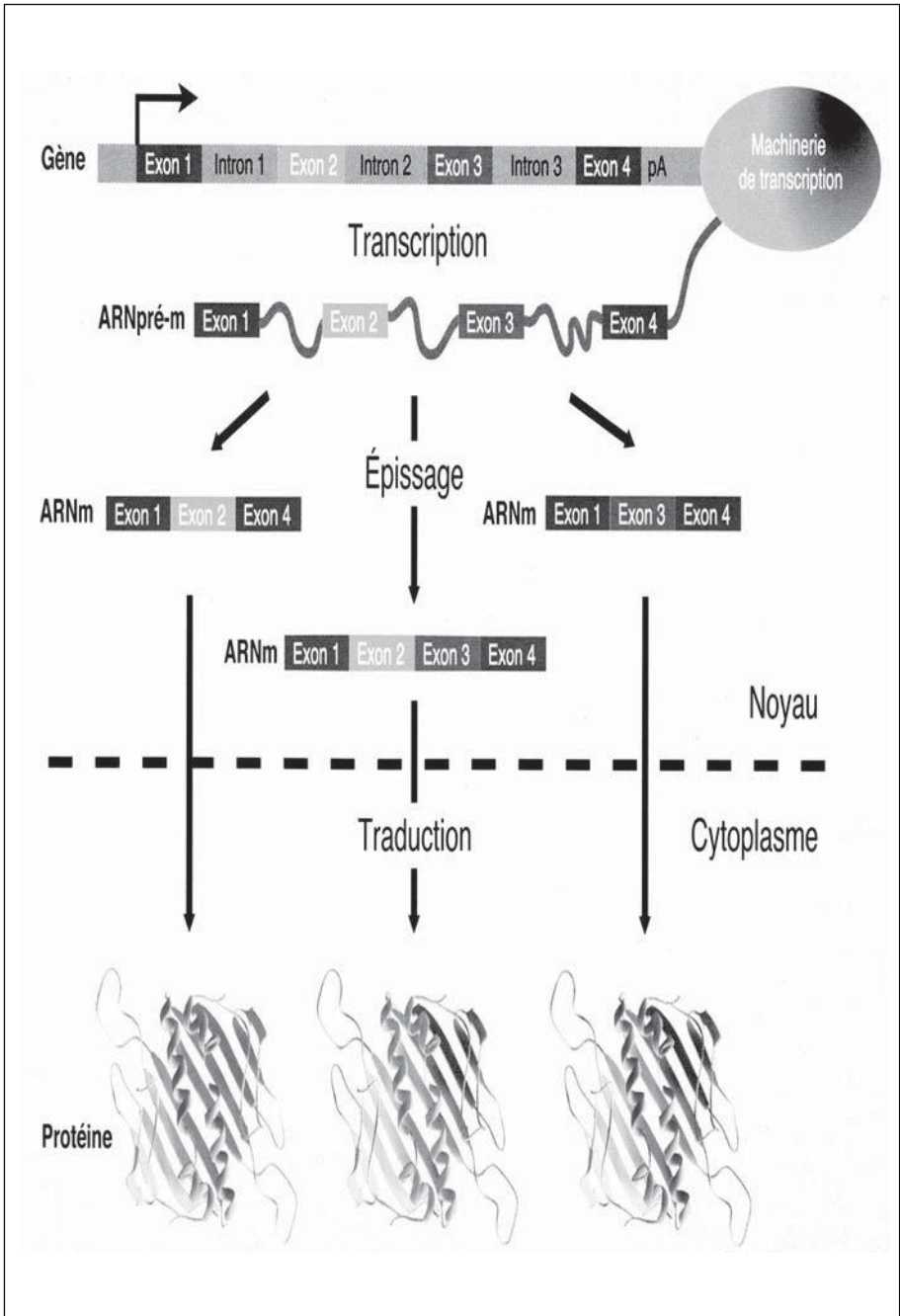
– La première étape appelée transcription est le copiage enzymatique (RNA polymérase) du gène en un pre-ARNm (pre-ARN messenger), réplique partielle de l'ensemble « exons-introns ».

– L'étape suivante, appelée « épissage », consiste dans la réunion des copies-ARN d'exons et élimination des copies-ARN d'introns et la formation d'ARN messagers matures.

À noter que l'épissage est souvent « alternatif » comme indiqué ici. Les copies-ARN d'exons peuvent être assemblées selon des combinaisons différentes (ici : 3 combinaisons d'ARN messagers : exons 1-2-4, 1-3-4, et 1, 2, 3, 4.)

Les messagers matures produits par épissages, sont exportés du noyau vers le cytoplasme, où ils sont « traduits », conduisant à 3 protéines différentes.

(reproduit de Biofutur, n° 216, p. 40, 2001).



épissage peut varier. Il en résulte qu'un seul et même gène peut, à travers ce mécanisme sélectif de raccordement, coder pour la synthèse de protéines formées de sous-éléments peptidiques différents ; plus simplement, à un gène, peuvent correspondre souvent plusieurs protéines. Lorsque le nombre d'exons est élevé, les combinaisons résultant de l'épissage alternatif peuvent être très variées : certains gènes peuvent coder individuellement pour des centaines de protéines ! Ce « bricolage moléculaire » constitue donc un avantage évolutif considérable pour les organismes supérieurs. Il dote, en effet, la cellule eucaryotique d'une diversité de protéines infiniment plus grande, plus variée que celle observable chez une bactérie comme *Escherichia Coli*. Cette situation sera, à nouveau, évoquée dans notre développement consacré à la protéomique. On est également là en présence d'un mécanisme d'une grande importance en ce qui concerne la différenciation cellulaire.

Mais une autre observation, de caractère général, sans doute encore plus inattendue, allait découler de la découverte du mécanisme d'épissage.

I.3.4. RIBOZYMES ET MONDE DES ARN

Certains « transcrits primaires » correspondant à l'ensemble « exons-introns » sont capables, en l'absence de spliceosomes et de tout catalyseur protéique, d'exciser spontanément les séquences ARN, copies de certains de leurs introns. Ce cas d'auto-épissage fut décrit pour la première fois dans le milieu des années 80 par T. Cech. Depuis lors, d'autres activités catalytiques propres à certains ARN ont été mises en évidence, le seul prérequis étant la présence de cations divalents. On a donné le nom de « ribozymes » à ces ARN pour rappeler qu'ils se comportent comme des enzymes véritables (douées en l'occurrence d'activité nucléasique). Nombre d'entre eux ne manifestent pas seulement un pouvoir d'autoclivage mais peuvent attaquer des molécules d'ARN étrangères, par exemple d'origine virale.

La découverte des activités catalytiques que peuvent manifester certains ARN a bouleversé nombre de concepts sur l'origine de la vie à l'ère prébiotique. L'opinion qui prévaut actuellement est que le monde des ARN aurait joué un rôle prépondérant parmi les toutes premières macromolécules apparues. L'existence des systèmes de rétrotranscription (ARN → ADN), si répandus aujourd'hui chez certains virus, peut donner à penser que l'ADN ne serait apparu qu'après coup. Plus généralement, nous verrons que le monde des ARN réserve encore de très grandes surprises, lorsqu'il sera fait allusion à l'étonnant phénomène « d'interférence », récemment découvert.

Le caractère discontinu des gènes qui font partie intégrante de sa séquence, n'est pas la seule propriété qui distingue l'ADN des cellules d'organismes supérieurs de celui des procaryotes bactériens ou des bactériophages.

En effet, une autre différence essentielle réside dans les localisations cytologiques respectives de ces deux classes d'ADN. Dans la première, celle des eucaryotes, l'ADN existe dans une forme extrêmement compacte dans des chromosomes, tandis que dans la seconde, celle des procaryotes, il se trouve en contact plus ou moins direct avec un cytoplasme dépourvu de noyau.

I.4. LA COMPLEXITÉ DU MATÉRIEL GÉNÉTIQUE CHEZ LES ORGANISMES « EUCARYOTIQUES »

I.4.1. COMPACTION DE LA CHROMATINE – NUCLÉOSOMES

La compaction de l'ADN eucaryotique a fait l'objet de très nombreux travaux. Il faut, en effet, réaliser qu'une cellule animale ou végétale, de quelques microns de diamètre, contient près de deux mètres de ruban codé sous forme d'ADN à l'intérieur de son noyau ! La compaction de cet ADN est réalisée par une succession d'enroulements et de super-enroulements... En premier lieu, la double hélice d'ADN, qui présente à cet égard une certaine flexibilité, est enroulée de façon régulière autour de minuscules corpuscules protéiques, sortes de bobines plus ou moins sphériques, les nucléosomes, en formant deux boucles autour de chacun d'entre eux, de sorte que l'ensemble se présente comme un « chapelet ». Chaque nucléosome est composé d'un conglomérat de protéines très basiques, caractéristiques des cellules appartenant à l'embranchement des eucaryotes : les histones. D'autres interactions font subir à ce premier type d'enroulement des torsions qui lui confèrent l'aspect d'un « solenoïde » lequel est, à son tour, « surplissé » à l'intérieur des chromosomes, grâce à l'intervention de protéines non basiques, distinctes des histones.

Chez les bactéries (Rouvière-Yaniv) bien que l'ADN n'entre pas dans un système d'enroulement aussi complexe et que l'on ne dénote pas l'existence de nucléosomes, ni d'histones, à proprement parler, l'ADN est néanmoins associé à des protéines de point isoélectrique élevé, telle la protéine thermostable, dénommée Hu. Le complexe ainsi formé peut être assimilé à un « chromoïde ». L'ADN est circulaire et rattaché à la membrane (F. Jacob, Ryter).

I.4.2. MODIFICATIONS ÉPIGÉNÉTIQUES

La transcription, mais également la réplication, de l'ADN d'une cellule eucaryotique font nécessairement intervenir d'importants réarrangements topographiques de la chromatine conduisant à une dissociation des nucléosomes lors du passage des polymérase suivie par leur reconstitution. Certaines régions de la chromatine demeureront « compactées » et non fonctionnelles au cours du développement (hétérochromatine). En revanche, dans les régions « actives », c'est-à-dire celles qui sont transcrites (régions repérables expérimentalement, du fait de leur sensibilité à la Dnase-1) se produit, comme nous venons de le dire, un relâchement (dissociation provisoire) des nucléosomes. Celui-ci est consécutif à une acétylation de certaines histones constitutives car les histones acétylées sur la lysine ont une moindre affinité pour l'ADN. Le rôle des histones-acétylases est donc crucial dans l'activation de certaines portions de la chromatine, tandis que les histones-désacétylases produisent l'effet inverse. Un autre mode de verrouillage de l'activité transcriptionnelle du génome eucaryotique consiste dans la méthylation de séquences voisines des promoteurs, telles les séquences CpG. Des ADN méthylases convertissent, en effet, la cytosine de ces « îlots » CpG en méthyl-cytosine, ce qui a pour effet d'oblitérer le fonctionnement du ou des gènes situés à proximité. On donne souvent le nom de modifications épigénétiques à ces modifications globales plus ou moins réversibles, et transmissibles héréditairement, mais ne faisant pas intervenir la séquence de l'ADN, modifications incluant notamment les systèmes d'acétylation et désacétylation des histones et celles consistant dans la méthylation (ou déméthylation) des îlots CpG.

Nous reviendrons, plus en détail, sur les mécanismes mis en jeu dans cette régulation épigénétique dont le rôle dans le développement des organismes eucaryotiques et dans leurs dysfonctionnements, revêt une importance croissante.

I.4.3. RÉGULATION POSITIVE – PROMOTEURS – SÉQUENCES CIS-RÉGULATRICES

Une autre particularité de l'ADN eucaryotique qui mérite attention est sa richesse en séquences régulatrices et en éléments répétitifs. Nous avons vu précédemment que les gènes des organismes procaryotiques comportent un site initiateur de leur transcription en ARN messager, séquence particulière appelée « promoteur », au niveau de laquelle s'attache l'ARN polymérase. Ce processus peut être bloqué par fixation d'un

répresseur en un site voisin appelé « opérateur », comme c'est le cas dans le contrôle négatif de l'opéron-lactose. Il peut à l'inverse être activé par certains facteurs spécifiques qui se fixent également en amont du promoteur (ce qui implique souvent la participation d'un cofacteur particulier, l'AMP-cyclique).

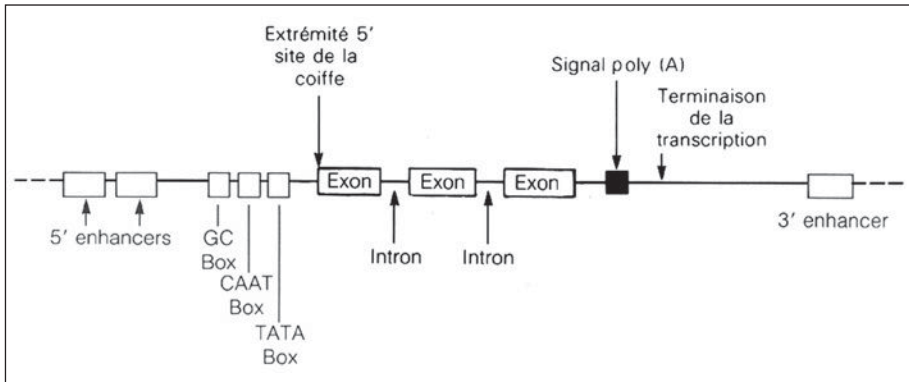


Fig. 4. Séquences régulatrices d'un gène d'organisme supérieur (eucaryote)

(Pour la signification des sigles, voir le texte). On voit figurer divers types de « ponctuations » (séquences ci-régulatrices) dont certaines sont courantes (CAAT, TATA, GC). D'autres, non indiquées ici peuvent être spécifiques : ainsi la séquence CNNTG (ou N peut être une base quelconque) accompagne le plus souvent les séquences des gènes codant pour des fonctions musculaires. Les « enhancers » (activateurs) sont également des séquences particulières. Ils peuvent être situés en 5' ou 3' du gène (la transcription du gène débute au voisinage de la TATA box et chemine de l'extrémité 5' vers l'extrémité 3'). La plupart des transcrits de gènes « eucaryotiques » sont terminés par une séquence poly A (rôle dans la stabilisation et le transport du transcrit primaire).

Chez les organismes eucaryotiques on observe, comme chez les procaryotes, des mécanismes de régulation faisant intervenir les promoteurs et des séquences régulatrices. Toutefois l'évolution a doté ces organismes d'éléments régulateurs beaucoup plus diversifiés : la transcription des gènes démarre, dans la plupart des cas, au voisinage d'une courte séquence, TATA – dénommée en anglais « TATA Box ». Ce processus mobilise d'ailleurs, pour cela, divers facteurs intervenant dans la « reconnaissance » de cette région précise (ex. tels les facteurs TF) (P. Chambon). De surcroît, le gène qui se trouve au voisinage de ce « boîtier » TATA est activé, à des degrés variables, grâce à l'intervention de séquences régulatrices particulières localisées, le plus souvent, en amont, à des distances variables de la TATA box.

Ces séquences régulatrices peuvent être « reconnues » à leur tour par des facteurs protéiques d'intervention très générale, c'est-à-dire capables d'activer des gènes de nature variée ; tel est le cas par exemple des facteurs qui se fixent à la séquence CAT (*CATBox*). D'autres séquences régulatrices peuvent, en revanche, avoir un rôle très spécifique en stimulant une classe particulière de gènes. Ainsi la séquence « CNNTG » (où N est une base quelconque), encore appelée *E-box*, n'est reconnue que par des facteurs de régulation activant les gènes intervenant dans la synthèse des protéines musculaires¹.

Il convient d'ailleurs de garder en mémoire le degré considérable de compaction de l'ADN dans une cellule eucaryotique, caractérisé notamment par de nombreux « replis » de la double hélice. Il est, dès lors, vraisemblable que les facteurs de transcription interviennent souvent en favorisant, au plan tridimensionnel, le rapprochement topologique de régions de la chaîne d'ADN éloignées les unes des autres. Si l'on se souvient que l'activation transcriptionnelle de la chromatine implique également un remodelage (dissociation réversible) des nucléosomes, on mesure à quel point les mécanismes de régulation génique chez les « eucaryotes » sont à la fois complexes et d'une extrême précision.

I.4.4. ADN CODANT ET NON CODANT

Encore n'avons-nous raisonné jusqu'ici que comme si l'ADN eucaryotique était, comme chez les bactéries, composé de façon quasi exclusive de séquences génétiquement fonctionnelles. Or cela n'est guère le cas, de sorte que les biologistes sont confrontés à une particularité de l'ADN nucléaire qui, depuis sa mise en évidence, soulève encore bien des interrogations. En effet, la fraction de l'ADN présent dans les chromosomes qui appartient à la catégorie « génétiquement fonctionnelle » ne représente, sans doute guère plus de quelques pourcents de l'ADN total (3 à 4 %) ! (Cette situation sera évoquée à nouveau à propos des données issues de la génomique). On est donc conduit à se demander de quels

1. Hormis l'existence de ces boîtiers de régulation, dont les séquences sont bien déterminées (TATA, CAT, CNNTG, etc.), existent souvent, très en amont du promoteur de transcription, des séquences d'ADN, de nature variable, plus ou moins longues, dont l'interaction avec des facteurs protéiques particuliers, déclenche une très forte activation du gène situé en aval, parfois à une assez grande distance. On donne à ces segments activateurs de l'ADN, le nom « d'enhancer » (de l'anglais « *to enhance* » : stimuler). D'autres segments d'ADN peuvent, une fois reconnus par le facteur approprié, inhiber la transcription à distance : ce sont des « *silencers* ».

autres éléments est composée la majorité de l'ADN chromosomique non codant ?

Une fraction importante de cet ADN est, certes, représentée par les introns (cf. *supra*), c'est-à-dire par les séquences servant « d'intercalaires » plus ou moins longs séparant les exons. Encore doit-on considérer ces introns comme des éléments essentiels du fonctionnement proprement génétique (épissage alternatif, transport extranucléaire des ARN messagers fonctionnels...).

Une autre fraction est formée, ainsi que nous venons de le voir, par les nombreuses séquences régulatrices qui servent de sites de fixation aux multiples facteurs protéiques intervenant dans le contrôle positif de la transcription génique. Mais la même remarque que celle faite ci-dessus peut s'appliquer à ces séquences régulatrices.

Parmi les autres séquences de l'ADN eucaryotique dénuées de pouvoir codant, figurent enfin des pseudogènes et des éléments répétitifs. Les pseudogènes sont des séquences d'ADN voisines de celles des gènes véritables, mais cependant non codantes, soit que fassent défaut les codons d'initiation, soit du fait de l'existence en leur sein de codons « stop », soit encore qu'il s'agisse de séquences dépourvues d'introns, (résultant de l'intégration de rétrovirus, ou de copies réverses d'ARN messagers), l'absence d'introns pouvant entraîner un défaut dans le mécanisme de transport extranucléaire des transcrits résultant du copiage transcriptionnel de ces séquences.

I.4.5. ÉLÉMENTS RÉPÉTITIFS

Les éléments répétitifs de l'ADN peuvent être extrêmement variés. On y rencontre :

a) Des transposons découverts pour la première fois par la biologiste américaine, Barbara Mc Clintock, en 1952, dans le génome du maïs, également décrits chez la levure et chez la drosophile, puis chez la totalité des eucaryotes. Ces transposons sont de courtes séquences d'ADN qui, comme leur nom l'indique, présentent la particularité de pouvoir se déplacer d'un site de l'ADN chromosomique à un autre, sous l'effet de perturbations dues à des facteurs externes, tel qu'un choc thermique, ou à des remaniements génétiques. Les rétrovirus appartiennent également à la classe des éléments transposables. Les ADN génomiques des rétrovirus endogènes sont souvent présents à l'état de copies multiples et sont « mobiles ».

Il convient de noter que les eucaryotes n'ont toutefois pas l'apanage de renfermer des transposons. L'ADN bactérien peut également contenir de tels éléments transposables, représentés par des épisomes (Lederberg, Jacob et Wolleman), ou encore par des plasmides (mini-chromosomes) pouvant exister à l'état intégré, ou à l'état circulaire et libre, à l'intérieur du cytoplasme et susceptibles de se transférer d'une bactérie à une autre.

b) Toute une variété de séquences de longueurs variables pouvant être répétée un grand nombre de fois. Parmi elles, certaines sont « dispersées » (*intersperced*) à travers tous les chromosomes constitutifs du génome. Elles peuvent être courtes (300 à 500 nucléotides). C'est le cas, par exemple, des séquences baptisées « Alu », qui figurent en des centaines de milliers d'exemplaires et représentent jusqu'à 3 % de l'ADN nucléaire chez l'homme ! D'autres peuvent être beaucoup plus longues.

c) Enfin, on rencontre dans l'ADN eucaryotique, des séquences répétitives, également courtes, mais demeurant juxtaposées en « tandems » (« tandem repeats » en anglais). Elles sont souvent dénommées « satellites ». Ces éléments interactifs se trouvent parfois rassemblés en des territoires définis des chromosomes, par exemple en leurs extrémités (télomères), ou dans des zones « d'étranglement » (centromères) généralement vers leur milieu. Les séquences télomériques qui, par leur répétition, forment souvent une longue terminaison moléculaire à l'extrémité de l'ADN chromosomique, se raccourcissent à chaque nouvelle division en perdant un ou plusieurs sous-éléments. Elles peuvent néanmoins se reconstituer sous l'influence d'enzymes spécifiques, les télomérases, lesquelles sont moins actives au cours du vieillissement. Lorsque les séquences télomériques deviennent trop courtes, la division cellulaire s'arrête.

Si, comme on le voit, une partie de l'ADN non codant peut jouer un rôle plus ou moins direct dans l'activité du génome (ex. : introns, séquences régulatrices) ou dans sa réplication, on peut également imaginer qu'une fraction significative de cet ADN intervient dans l'organisation tridimensionnelle du génome à l'intérieur des chromosomes en facilitant l'interaction des replis de l'ADN avec des protéines de fixation (*scaffold proteins*).

I.5. GÉNOMIQUE – DONNÉES GÉNÉRALES – CONSÉQUENCES – APPLICATIONS

Dans le début des années 80, les biologistes moléculaires commencent à réaliser que s'offre à eux, avec les résultats des recherches sur les organismes supérieurs, un tableau certes d'une grande complexité mais dont l'essentiel a été dépeint. D'une part, nombre de défis ont été relevés en génétique moléculaire. Les mécanismes qui président au transfert et à la régulation de l'information génétique sont pratiquement élucidés. Cela explique, sans doute, que, parmi ces biologistes, plusieurs d'entre eux prennent alors le parti de se tourner, plus activement, vers les processus intervenant dans le développement, la différenciation somatique, l'embryologie ainsi que vers la réponse immunitaire et les neurosciences, en utilisant précisément les méthodes et techniques de la biologie moléculaire.

Toutefois, en dehors du génome de quelques virus bactériens (ex. : Øx 174) et de quelques gènes eucaryotiques purifiés par clonage, les séquences chimiques de la plupart des génomes cellulaires envisagés dans leur globalité, qu'elles soient d'ailleurs d'origine bactérienne ou proviennent d'organismes supérieurs, demeurent alors inconnues.

L'histoire des débuts de la génomique ne peut être relatée ici de façon exhaustive¹. Pour atteindre leur nouvel objectif, c'est-à-dire établir l'enchaînement des millions de bases qui constitue la séquence d'un génome, les scientifiques ont fait appel à deux techniques majeures, l'une essentiellement chimique, (Maxam et Gilbert), l'autre, enzymatique, (Sanger) et ont ainsi commencé à « séquencer » des génomes de plus en plus complexes.

1. Le lecteur pourra se reporter aux revues ou monographies signalées dans la bibliographie.

Le premier en date qui ait livré ses secrets fut celui de la bactérie *Hemophilus influenzae* (1985). Ce succès fut suivi par la caractérisation des séquences de nombreux autres microbes, d'une levure, (*Saccharomyces cerevisiae*), du ver nématode (*Caenorhabditis elegans*), de la drosophile, de la souris et enfin, au début du millénaire, de l'homme lui-même (du moins dans une version provisoire : C. Venter, F. Collins).

I.5.1. GÉNOMIQUE STRUCTURALE ET FONCTIONNELLE

Entre le génome d'une bactérie qui comprend quelques millions de bases, et celui de l'homme, qui en comporte 3,5 milliards, soit 1 000 fois plus, on conçoit que la mise en œuvre de procédés automatisés, réalisés par des machines appelées « séquenceurs », se soit avérée indispensable. Une fois établies les séquences « brutes » d'un génome, il convient pour les raisons évoquées précédemment de localiser celles des gènes « véritables » qui sont disposés dans sa continuité chimique. Cette opération baptisée « annotation » est facilitée par la reconnaissance d'éléments de séquences promotrices, d'îlots CpG, mais également de séquences de terminaison et de poly-adénylation (en effet, les messagers des eucaryotes comportent généralement en leurs extrémités 3'OH, des chaînes plus ou moins longues de poly.A). Le repérage des introns est également rendu possible par la détermination des séquences très particulières qui les bordent à leurs deux extrémités, en alternance avec les deux exons qui les encadrent (Chambon).

Mais les objectifs princeps de la génomique ne se limitent pas au séquençage complet des génomes, à la délimitation brute, sur les chaînes d'ADN ainsi étudiées, des éléments codants et non codants (annotation) et à leur dénombrement, ce qui constitue la démarche dite de génomique structurale. Ils consistent également à connaître les rôles que jouent ces différents gènes dans l'économie de la cellule (génomique fonctionnelle).

Une des façons d'appréhender ce problème réside, au premier niveau, dans la caractérisation des produits moléculaires des gènes, c'est-à-dire dans l'étude des ARN codants et non-codants, ainsi, et surtout, que des protéines et de leurs interactions. Une autre approche, sorte de caractérisation par défaut, consiste à rechercher la fonction de chaque gène en étudiant les conséquences résultant de son élimination par recombinaison homologue (technique dite du « knock-out ») (M. Capecchi). On peut toutefois conjecturer que l'effet résultant de l'effacement expérimental d'un gène, entraînera à la fois des effets « spécifiques », dus par exemple à l'absence d'un facteur de régulation particulier codé par le gène, et des effets « secondaires » parfois difficiles à

discriminer des précédents. La technique du *knock-out* s'avérera surtout utile pour préciser les conséquences physiologiques globales de l'élimination d'un élément génétique particulier, *a fortiori* en connaissance de ses produits d'expression.

● *Les « surprises » de la génomique – Le nombre de gènes*

Le séquençage des génomes appartenant à diverses espèces, voire divers règnes, devait réserver de grandes surprises une fois dénombrés les gènes proprement dits. Il apparut en effet que, d'un règne ou d'une espèce à l'autre, le nombre total de gènes ne variait que dans d'assez faibles proportions. Avec ses 25 000 gènes, *Homo sapiens* ne se distingue guère, en effet, que d'un facteur 5 par rapport à la bactérie *E. coli*, assez peu du ver *Caenorhabditis*, et encore moins de la souris ou de la plante *Arabidopsis thaliana* ! Si l'on prend en compte, à présent, les génomes des plantes supérieures, on constate que certaines d'entre elles renferment pratiquement le même nombre de gènes que l'homme, voire davantage ! (c'est le cas du riz). Le critère numérique absolu semble, à première vue, sans corrélation stricte avec la place occupée par les diverses espèces étudiées dans l'échelle évolutive.

Tableau 1. Données génomiques comparatives des bactéries à l'homme.

L'ADN présent dans une cellule de mammifère (souris, homme) est 800 fois plus long que celui présent dans une cellule de la bactérie *E. coli*. Les contenus informatifs (nombre total de paires de bases) sont à peu près dans le même rapport. Toutefois le nombre de gènes (codant pour des protéines ou des ARN) varie dans des proportions beaucoup plus faibles (5 fois environ). Cela est lié au fait que, contrairement à ce que l'on observe chez *E. coli*, la majorité de l'ADN de mammifère est de type « non codant » (voir le texte).

Organismes	Paire de bases (millions)	Longueur ADN Total	Nombre de gènes	o % ADN codant
<i>E. coli</i>	4.6	1,6 mm	4 288	> 90 %
Levure	12	4,1 mm	6 241	> 70 %
Nematode	97	3,3 cm	19 000	> 27 %
Drosophile	160	5,4 cm	13 600	> 12 %
Souris	3500	1,2 m	25 000	> 3 %
Homme	3500	1,2 m	25 000	> 3 %

Cet apparent paradoxe est encore plus accusé lorsque l'on examine la nature chimique des séquences génomiques codantes (gènes). On constate, en effet, que ces séquences sont fréquemment conservées, sinon dans leur totalité, du moins dans de grandes proportions. Le cas est certes frappant lorsque l'on compare le chimpanzé à l'homme. Le nombre absolu des gènes est identique et les différences observées dans leurs séquences sont minimales (1,2 %). Il y a même de grandes parentés entre les séquences des gènes de souris et d'homme. Plus frappant encore est le fait que de nombreux gènes de levure (dont le génome ne comporte environ que 6 000 gènes) ont été conservés au cours de l'évolution, à travers la panoplie des génomes eucaryotiques, y compris le génome de l'homme. Cette situation n'implique pas toutefois que les gènes « conservés » remplissent toujours la même fonction d'une espèce à l'autre, c'est-à-dire que les protéines correspondantes appartiennent au même réseau métabolique (cf. l'hypothèse dite du « bricolage génétique » émise par F. Jacob).

Comment rendre compte du fait que le nombre de gènes en provenance d'organismes supérieurs, diffère dans des proportions, au demeurant si faibles, d'une espèce à l'autre ? Plusieurs explications ont été avancées. On peut penser par exemple qu'un petit nombre de gènes de développement fait la différence. Ces gènes seraient responsables, entre autres, d'un développement exceptionnel du « télencéphale » dans l'espèce humaine (les aptitudes cognitives propres à cette espèce, dépendant beaucoup plus d'ailleurs de l'apprentissage et de l'éducation lesquels auraient pour support biologique une stabilisation préférentielle de certains réseaux synaptiques (J.-P. Changeux et A. Danchin)) que de la richesse en gènes actifs dans le cerveau. On a également invoqué que la complexité évolutive était davantage déterminée par le nombre de gènes « régulateurs », ou par la richesse en réseaux de régulation lorsque l'on s'élève dans l'échelle évolutive. Il est clair qu'une faible différence dans le nombre d'éléments d'une série peut engendrer des différences considérables dans le nombre des combinaisons entre ces éléments. Enfin, et surtout, il convient de ne pas oublier que la complexité biochimique d'une cellule ou d'un organisme entier repose avant tout sur les protéines qui constituent son patrimoine (notion de protéome). Or les mécanismes d'épissage alternatif peuvent conduire à une amplification considérable du nombre de ces protéines et c'est de leurs interactions que dépendent la plupart des propriétés des cellules ou des organismes, qu'il s'agisse de propriétés structurelles ou métaboliques. Quel que soit le bien fondé de cette interprétation, il n'en demeure pas moins que la situation issue de la numérologie comparée des gènes, provenant d'espèces souvent très éloignées sur le plan évolutif, a conduit certains biologistes (K. Scherrer *et al.*) à s'interroger sur la vraie signification et la définition du mot « gène ». Pour être plus précis, il apparaît que, chez les organismes

supérieurs, le concept de gène ne se réduit pas simplement à ses délimitations moléculaires au niveau de l'ADN (même en y associant les séquences régulatrices). Le gène des eucaryotes peut difficilement se définir en dehors de son contexte fonctionnel. Ses produits ultimes sont des protéines dont la nature résulte des modalités de l'épissage et dont les rôles dépendent des interactions qui s'établissent entre elles et les autres protéines, ainsi que des modifications post-traductionnelles (acétylations, phosphorylations, glycosylations, etc.). Ces considérations seront à nouveau évoquées lorsque nous discuterons de la « biologie des systèmes ».

I.5.2. POLYMORPHISME GÉNÉTIQUE – LES SNP

La nécessité d'élargir notre conception de ce qu'est un gène s'impose également à la lueur des études sur le polymorphisme des génomes. En effet, l'établissement des séquences des génomes de nombreuses espèces a révélé une particularité nouvelle très importante : les ADN en provenance des individus d'une même espèce, présentent, dans leurs séquences, des différences, ou « polymorphismes » qui sont propres à chacun d'entre eux, indépendamment des rares changements dus à la présence de mutations dont la fréquence est relativement rare. Ces polymorphismes sont à l'origine d'une véritable individualité génétique. Ainsi la probabilité pour que les séquences ADN des individus d'une même espèce soient rigoureusement semblables est quasi nulle. Cette particularité est mise d'ailleurs à profit dans le fameux « test à l'ADN » (qui a remplacé l'utilisation des empreintes digitales) dans les investigations policières ou en recherches de paternité. Ce polymorphisme individuel peut se manifester sous plusieurs aspects :

- Une répartition particulière des séquences « satellites » (cf. *supra*) ;
- Des modifications « ponctuelles » dans la séquence de l'ADN génomique caractérisées par la variation d'une seule et unique paire de base à l'intérieur de la séquence d'un gène. Ce type de modifications est décrit en anglais sous le nom de « polymorphisme au niveau d'un seul nucléotide » (*single nucleotide polymorphism*, SNP en abrégé, ou encore « snip », dans le jargon consacré des « génotypistes »). On considère qu'il existe en moyenne un SNP toutes les 500 à 1 000 paires de bases. Ainsi dans l'espèce humaine, chaque individu diffère de chaque autre par plusieurs millions de traits polymorphes et, selon le fameux aphorisme du généticien Langaney : « nous sommes donc tous parents et tous différents ».

L'existence de ce polymorphisme a des conséquences à la fois fondamentales et pratiques. Au plan fondamental, si la présence d'un SNP particulier au

sein d'un gène ne suffit pas dans la plupart des cas contrairement à celle d'une mutation ponctuelle, à modifier les propriétés de la protéine correspondante, elle peut néanmoins entraîner des changements dans le degré d'expression de ce gène, voire dans la magnitude des effets entraînés par les mutations elles-mêmes. On peut donc tirer parti de la connaissance topographique des SNP à l'intérieur du génome (génotypage), pour classer, par exemple, des groupes d'individus selon la distribution de leurs SNP. Après avoir établi les corrélations statistiques appropriées, on pourra par exemple établir des relations entre telle répartition de traits polymorphes (notamment de SNP) dans des génomes de populations données et les probabilités qu'elles ont de présenter tel ou tel phénotype (degré de susceptibilité à des cancers ou autres maladies). Ce génotypage des populations intéresse les anthropologues et les généticiens. Il n'a pas manqué toutefois de susciter des craintes relatives à l'émergence d'un eugénisme scientifique !

Si, à présent, le polymorphisme concerne des gènes codants pour des enzymes impliquées dans la modification d'une molécule douée d'activité pharmacologique, on pourra en déduire, par recherche de corrélations, le degré d'efficacité thérapeutique de cette molécule en fonction des polymorphismes observés chez tel ou tel groupe d'individus. C'est le principe de ce que l'on a dénommé « pharmacogénomique », une démarche qui préfigure, d'une certaine manière, une pharmacothérapie « à la carte »... Quoi qu'il en soit, on voit bien à travers ces exemples que l'expression d'un gène ou l'ampleur des effets des mutations peuvent dépendre, dans une large mesure, du contexte génomique global, lequel varie sensiblement d'un individu à l'autre.

I.5.3. UNE BIOLOGIE DES « ENSEMBLES MOLÉCULAIRES » : TRANSCRIPTOMES – PROTÉOMES

Si, dans son ambition première, le séquençage intégral du génome, visait à conférer aux biologistes une meilleure compréhension du fonctionnement cellulaire en permettant d'appréhender « en bloc », les milliers de gènes présents dans le génome de l'espèce étudiée, très vite la question s'est posée de l'accès technique à l'ensemble des ARN messagers (ou autres formes d'ARN) produits par ces gènes, ainsi qu'à l'ensemble des protéines correspondantes. Ainsi s'est dessinée peu à peu une nouvelle démarche dans l'étude du fonctionnement de la cellule, sorte de biologie des ensembles moléculaires.

L'ensemble des ARN, produits par transcription d'ADN, est appelé transcriptome et leur étude, « transcriptomique ».

L'ensemble des protéines produites à partir du transcriptome est appelé protéome et la méthode d'approche technique et interprétative de ce protéome est appelée « protéomique ».

● *Transcriptomes – Puces à ADN*

L'étude des transcriptomes a été rendue possible pour la première fois dans l'histoire de la biologie grâce à l'introduction d'une nouvelle technologie, qui fut décrite dans une publication en 1954. On y rapportait l'hybridation de la globalité des « transcrits » (ARN) dérivés du végétal, *Arabidopsis*, avec des courtes séquences d'ADN, correspondant à des portions des gènes de la plante, immobilisées sur un support solide. Par la suite, les « sondes-ADN immobilisées » sur support (lamelle de verre ou de silicium) étaient constituées soit par de courtes chaînes d'ADN, obtenues par amplification grâce à la technique PCR (Mullis), soit par des oligonucléotides synthétisés directement sur le support solide par microphoto-lithographie (technique Affymetrix) et reproduisant des séquences caractéristiques de gènes connus. En pratique, des centaines, voire des milliers de sondes à ADN issues de gènes connus (ou d'oligonucléotides reproduisant leur séquence) sont donc, soit déposées, soit synthétisées *in situ* et disposées sur la surface solide, dans un ordre et selon une topologie déterminés : de sorte que les ARN messagers qui s'hybrident avec ces sondes peuvent être aisément caractérisés. En général, avant de déposer l'extrait cellulaire renfermant le pool global des ARN que l'on tente de caractériser, on convertit ces ARN transcrits de gènes en c-ADN, (séquences d'ADN complémentaires obtenues *in vitro* en faisant agir la transcriptase inverse), et on les marque par un agent fluorescent. On peut ensuite repérer les spots fluorescents correspondant aux hybrides formés. Des procédés automatiques permettent en effet de les déceler et de recenser ainsi les ARN-m initialement présents dans l'extrait.

Cette technique dite des « puces à ADN » permet donc de préciser quels sont les gènes exprimés dans une cellule (transcription) à un instant donné (*gene profiling technique*). Elle a connu, depuis 1990, un très grand nombre d'applications. Elle permet par exemple d'établir des comparaisons du spectre d'expression génique entre une cellule à l'état normal et à l'état cancéreux (pronostics dans l'évolution de certains cancers). Elle est utilisée en génétique des populations. Elle permet de suivre les réseaux de gènes qui s'expriment en fonction de l'état de développement d'un tissu ainsi que par les modifications causées par un agent pharmacologique, par une hormone, ou encore d'établir les changements dans le registre d'expression des gènes, consécutifs à une maladie génétique, etc. Toutefois, si la technique des puces à ADN autorise de très intéressantes études qualitatives, elle ne se prête pas toujours aussi facilement à une mesure précise du taux d'expression des gènes.

- *Protéomes*

En ce qui concerne les protéomes, de très gros progrès ont également été enregistrés pour leur étude globale. Toutefois, les difficultés sont liées ici à la très grande diversité des protéines potentiellement exprimables dans une cellule, notamment dans une cellule eucaryotique. En effet, par suite des processus d'épissages alternatifs, on a calculé qu'en moyenne chaque gène eucaryotique code pour 5 à 10 protéines de séquences apparentées mais distinctes. À quoi il convient d'ajouter la multitude de variants résultant des modifications post-traductionnelles : acétylations, hydroxylations, glycosylations, phosphorylations... Il est donc probable que la diversité potentielle ainsi réalisée peut sans doute avoisiner quelques centaines de milliers d'entités voire davantage ! Les techniques mises en œuvre pour l'analyse des protéomes sont variées. On peut, à l'image de ce qui est réalisé pour l'étude des transcriptomes, faire appel à des « biopuces ». Par exemple, on a recours à l'emploi de supports solides immobilisant des « ligands » divers (agents chimiques de synthèse, analogues chimiques de substrats, protéines, acides nucléiques, etc.) et on dépose l'extrait protéique à analyser sur ce micro-réseau où chaque élément retient la protéine qui lui est la plus affine. Des variantes permettront également d'analyser la réactivité des protéines ainsi retenues. On a également recours, depuis quelque temps, à la capture des éléments du protéome par des anticorps immobilisés sur support et de spécificité connue.

Cependant, l'une des techniques la plus utilisée repose sur l'électrophorèse bidimensionnelle en gel d'agarose, technique d'emploi courant mise en œuvre depuis des décennies, et qui a connu de très nombreux perfectionnements. Les protéines soumises à la séparation électrophorétique sont repérées par autoradiographie après marquage par un traceur. Elles peuvent être éluées du gel, digérées par des enzymes protéolytiques, la séquence des peptides obtenue étant déterminée par spectrométrie de masse.

Un nombre considérable de séquences protéiques a ainsi été établi et leur description est consignée au sein de grandes bases de données (ex. Swissprot). Toutefois, si connaître la séquence de nombreuses protéines issues de diverses espèces permet notamment d'intéressantes études comparatives, cela ne couvre qu'une partie des informations recherchées à leur propos. Véritables artisans du métabolisme, de la physiologie cellulaire ou des défenses immunitaires, éléments majeurs de la réception des signaux intra et extracellulaires, composantes principales de l'architecture de soutien et de nombreux organites, les protéines tirent leur importance de leur aptitude à la « reconnaissance stéréospécifique » de très nombreux ligands au niveau de leurs sites actifs, ainsi que des multiples interactions qu'elles établissent entre elles.

Connaître leur structure tridimensionnelle et les réseaux d'interaction auxquels elles participent, constitue donc également un des enjeux majeurs de la protéomique.

Depuis les travaux pionniers de M. Perutz et J. Kendrew sur la structure tridimensionnelle de l'hémoglobine, de multiples protéines ont vu s'établir leur configuration spatiale et se préciser leur nature mono ou multimérique (une ou plusieurs sous-unités). Il s'agit là de travaux de longue haleine mettant en jeu des techniques de cristallisation et de détermination précise des répartitions spatiales des divers atomes constitutifs, utilisant la diffraction des rayons X ou la spectrographie.

Compte tenu de l'énorme diversité des protéines et des difficultés techniques s'attachant à l'établissement de leur structure dans l'espace, la prévision de leurs modalités de repliement à partir de leurs séquences primaires constituait à l'évidence une approche d'un intérêt majeur. D'importants progrès ont été réalisés en ce sens et l'existence de certains « motifs peptidiques » est souvent révélatrice, non seulement de l'architecture tertiaire de la protéine qui les renferme, mais aussi de sa fonction physiologique. Certaines configurations tridimensionnelles « types » se retrouvent par exemple parmi les protéines agissant comme facteurs de régulation positive de la transcription chez les eucaryotes. Telles sont les structures dites « en doigts de zinc » (où l'atome de zinc permet des plissements de la chaîne peptidique en formes de « doigts » lesquels viennent ainsi au contact des séquences ADN régulatrices, en amont d'un promoteur (A. Klug) ou les structures dites en « fermeture Éclair, riche en leucine » (*leucine zipper*). D'autres conformations de protéines régulatrices répondent à l'agencement appelé b-HLH où la protéine comporte une séquence riche en acides aminés basiques (b) – précédant un arrangement dans lequel deux agencements hélicoïdaux (α -hélices, H) sont séparés par une boucle (L : « *loop* » en anglais). La partie basique facilite l'attachement électro-statique du facteur avec l'ADN et l'ensemble HLH sans doute son interaction avec d'autres facteurs fixés au voisinage du promoteur de transcription.

- *Interaction des protéines*

Mais, comme nous l'avons signalé précédemment, un autre défi qui est en réalité celui de l'ère post-génomique, est de comprendre comment les protéines exprimées, interagissent entre elles pour permettre l'expression d'une fonction physiologique définie, dans ce « micro-environnement » qu'est la cellule. En d'autres termes, la biologie contemporaine s'attaque désormais à un niveau de complexité que la biologie moléculaire n'avait pas encore cherché à atteindre. Des milliers de protéines sont exprimées dans la cellule ou le tissu

à des stades particuliers de leur développement. Or, bien que chaque protéine, prise isolément, puisse se voir attribuer une activité particulière (enzyme, récepteur, facteur de signalisation, chaperonine², etc.), tout porte à croire que, dans le milieu extrêmement compact que représente une cellule, les protéines agissent, *in vivo*, selon des constantes (affinités, vitesse...) distinctes de celles observées *in vitro* ; surtout, chaque protéine participe d'un réseau d'interactions complexes « protéines-protéines ». Déterminer les réseaux d'interactions qui sont sous-jacents à telle ou telle fonction métabolique spécifique, devrait ouvrir la voie à une biologie intégrative du vivant (métabolome).

À cette tentative de caractérisation des réseaux complexes d'interactions protéiques, se rattachent d'ailleurs, celles de préciser leur localisation dans le micro-espace intracellulaire, par exemple grâce à la microscopie confocale et l'objectif d'expliquer la dynamique qui préside à leur acheminement (flux intracellulaire des protéines). Diverses techniques, en œuvre depuis quelques années, ont permis la mise en évidence d'interactions protéines-protéines. Ainsi, on peut avoir recours à un système de piégeage par un anticorps spécifique : une protéine « A », dont on cherche à déterminer les partenaires dans un réseau d'interactions, est fusionnée à une protéine « B », par génie génétique, cette protéine B servant en quelque sorte « d'étiquette » (*tag* en anglais). On fait alors passer l'extrait cellulaire soluble (renfermant la protéine A) à travers une colonne renfermant un anticorps dirigé contre l'étiquette B. Seules seront retenues les protéines présentes dans l'extrait qui ont une forte affinité pour la protéine A. La liaison de cette protéine avec son étiquette est ensuite clivée enzymatiquement et on « dissocie » le complexe ainsi formé entre la protéine d'intérêt et les protéines interactives. Par électrophorèse bidimensionnelle en milieu dénaturant on peut alors caractériser celles-ci.

Une autre technique, très répandue, est celle « du double hybride ». Nous avons vu (cf. *supra*) qu'un facteur d'activation du type b-H-L-H comprend plusieurs sous-domaines : l'un servant par exemple à fixer le facteur à l'ADN, tandis que les autres stimulent la transcription en agissant au voisinage immédiat du promoteur. Appelons pour simplifier « α » le premier domaine et « β » le second. Le facteur comprenant les domaines $\alpha+\beta$ est fonctionnel (active les transcriptases) alors que chaque élément pris séparément ne l'est pas. Recherchons à présent si deux protéines P_1 et P_2 sont capables d'interagir l'une avec l'autre. On fabrique par génie génétique une protéine de fusion $\alpha-P_1$ et une protéine de fusion $\beta-P_2$. S'il y a interaction entre P_1 et P_2 , les domaines α et β se

2. Chaperonine : protéine capable de s'associer spécifiquement à une autre protéine et de la guider vers un micro-compartiment cellulaire défini pour lui permettre d'y exercer son activité.

trouveront artificiellement réassemblés ce qui, dans de nombreux cas, reconstituera l'effet stimulateur du facteur α - β au niveau de son segment de transcription. On pourra donc en déduire que, dans la cellule, les protéines P_1 et P_2 sont capables d'interagir l'une et l'autre. De proche en proche, on est parvenu par exemple à dresser ainsi une carte de très nombreuses interactions protéiques chez des organismes unicellulaires, tels que par exemple *B-subtilis*, ou la levure *Saccharomyces cerevisiae* ³.

● *Du génome au phénomène*

Arrivés au terme de notre discussion sur la génomique et la post-génomique, quelles conclusions générales pouvons-nous en tirer ? La biologie moléculaire, au cours de la phase qui a précédé l'essor de la génomique, dans son ambition d'expliquer le fonctionnement cellulaire, s'est surtout intéressée à des cas types, souvent isolés du contexte de l'environnement intra et extra-cellulaire global. Par exemple, l'étude de la régulation génétique a longtemps tiré parti du système lactose d'*E. coli* (induction et répression de l'opéron lactose) ou du système représenté par « l'induction » du prophage λ . Ces approches ont d'ailleurs été gratifiantes. Pourtant, avec le développement de la génomique, l'étude des transcriptomes, des protéomes (et bientôt celle des métabolomes), les biologistes ont commencé à aborder le fonctionnement de l'usine cellulaire par grands ensembles. Du coup, on a peu à peu réalisé que ces « ensembles » ne constituaient pas pour autant des compartiments isolés. En particulier, nombre de protéines appartenant au protéome (et même, comme nous le verrons ci-après, nombre d'ARN non-codants appartenant aux transcriptomes (cf. *infra*)), interagissent avec les séquences d'ADN ou avec des éléments du transcriptome. En d'autres termes, chaque ensemble interagit avec l'autre. Le caractère fortement « intégré » des compartiments ou sous-ensembles cellulaires, s'impose de façon plus claire encore, dès l'instant qu'on aborde la physiologie et la différenciation somatique, donc à des niveaux de complexité supérieure à celui d'une cellule isolée. Par exemple, plusieurs métabolomes peuvent intervenir dans ce que d'aucuns appellent déjà des physiomes, voire des phénomènes (c'est-à-dire l'ensemble des manifestations phénotypiques à l'échelle de l'organisme entier). Le caractère de fonctionnement en « boucles » plus ou moins fermées de la cellule, et la prise

3. Cette démarche, pour intéressante et novatrice qu'elle soit, ne revêtira sa pleine valeur que dans la mesure où il sera possible de montrer que, parmi ces multiples interactions, certaines sont directement impliquées dans une voie métabolique ou une voie de signalisation particulière. À cet égard, notons que si la recherche d'interactions protéines-protéines peut être révélatrice d'un fonctionnement cellulaire intégré, la biochimie cellulaire avait déjà réussi à mettre en lumière de véritables cascades de signalisation de protéine à protéine, impliquant des protéines phosphorylases et des protéines phosphatases (E. Fischer).

de conscience de ses multiples paliers d'intégration fonctionnelle dans un organisme vivant, débouchent peu à peu sur deux grands courants de pensée.

I.5.4. QU'EST-CE QU'UN GÈNE ? LA BIOLOGIE DES SYSTÈMES

Le premier consiste, comme nous l'avons déjà partiellement évoqué, à remettre un peu en cause la hiérarchie, attribuant aux gènes un rôle unique dans le déterminisme du fonctionnement cellulaire. L'ADN est une « écriture » laquelle est dépourvue de sens si elle n'est pas déchiffrée par un lecteur (en l'occurrence la cellule). Le code ne peut être « lu » de manière concrète, c'est-à-dire transposable en fonctions cellulaires intégrées, que grâce à l'action conjointe de la cellule et de son environnement.

Le second est d'ordre méthodologique ; il repose sur l'idée que, sans une nouvelle biologie, dite « biologie des systèmes » faisant appel à des outils d'analyses et de prévisions d'une très grande puissance, intégrant l'informatique, les nanotechnologies, certaines techniques physiques à haute résolution et l'outil mathématique, il serait vain d'espérer embrasser la complexité cellulaire, le fonctionnement physiologique d'un organe ou celui d'un écosystème, cela en dépit du nombre considérable de données issues de la biochimie, de la biologie moléculaire ainsi que des diverses approches de la génomique. Comme l'écrit Pierre Vignais (*Science expérimentale et connaissance du vivant*, p. 320, 2006) : « d'une approche mono-paramétrique, qui souvent au départ était essentiellement et nécessairement réductionniste, la méthode expérimentale appliquée au vivant en est venue à une approche « globalisée » ou synthétique, multiparamétrique, dont l'ambition est la compréhension de la dynamique des interactions moléculaires dans des systèmes biologiques définis. En se servant des données obtenues, l'espoir est de simuler, grâce à un traitement mathématique, le fonctionnement global d'une cellule, d'un organe ou d'un organisme ». Comme on l'aura compris, cette nouvelle biologie des systèmes ne limite pas seulement son ambition à une description du fonctionnement intégré de la cellule. Son originalité est également de formuler des prévisions relatives au changement de comportement du système en fonction de manipulations de paramètres (concentration en substrats, présence d'inhibiteurs, etc.).

Cet objectif est certes difficile à atteindre. Considérons le cas des enzymes ; il ne suffit pas en effet de connaître leurs substrats et les constantes de Michaelis pour prévoir comment ils fonctionnent dans la cellule. Il est clair, en effet, que leur degré de compaction et de mitoyenneté pourront changer considérablement leur efficacité. Il reste qu'en envisageant la complexité des systèmes biologiques sous l'angle « modulaire », on peut traiter l'ensemble

des réactions qui interviennent dans ce module par les mathématiques et tirer, des modèles ainsi élaborés, des prévisions intéressantes.

Une autre difficulté, et non des moindres, réside dans l'existence de phénomènes stochastiques. C'est le cas par exemple de cellules précurseurs en voie de différenciation auxquelles se présentent plusieurs choix, soit se différencier soit demeurer dans leur état initial (B. Laforge *et al.*).

Récemment, l'Union internationale de physiologie qui est l'une des quelque trente unions internationales des sciences dépendantes de l'ICSU (le Conseil international pour la Science) a d'ailleurs lancé en 2004, un ambitieux programme international des systèmes, dénommé « Physiome » et des centaines de publications sont déjà à mettre à l'actif de cette nouvelle approche pour la modélisation prévisionnelle du vivant.

Ces nouvelles voies d'approches offrent peut-être la perspective de voir se constituer peu à peu une nouvelle biologie mieux à même d'intégrer, dans sa description des phénomènes, ce qui fait précisément la complexité propre au vivant.

I.6. UN SOUFFLE NOUVEAU EN BIOLOGIE MOLÉCULAIRE – LE MONDE DES ARN ET LES PHÉNOMÈNES D’INTERFÉRENCE – RETOUR SUR L’ÉPIGÉNÉTIQUE

I.6.1. LE MONDE DES ARN

En sciences, l’illusion est fréquente d’avoir épuisé certains domaines de la connaissance. On pense alors que « tout a été dit » à propos de tel ou tel système d’étude, tant semble logique et exhaustive la somme de données recueillies à son sujet. Or la nature réserve souvent des surprises. Elles viennent parfois remettre en cause tout un corps de doctrines. La Biologie a été particulièrement fertile en ce genre de rebondissements. Faut-il rappeler la découverte de la transcriptase inverse, celle des gènes en mosaïque et des mécanismes d’épissage, etc. ou, plus récemment, celle des prions ?

Il y a à peine une décennie, alors que les schémas d’ensemble décrivant la régulation génétique au sein des eucaryotes avaient clairement établi l’existence des facteurs de contrôle positif (c’est-à-dire de protéines spécifiques agissant au niveau de séquences régulatrices voisines des promoteurs de transcription présents sur l’ADN), diverses observations, d’abord isolées, puis de plus en plus nombreuses, mettaient en lumière un phénomène tout à fait inattendu qui est lié à l’action de nouvelles catégories de molécules d’ARN. Puis, ce qui apparaissait alors comme une situation exceptionnelle, allait s’avérer représenter un mécanisme de régulation extrêmement répandu. Il existe, en effet, dans la cellule, à côté des ARN connus de longue date, (ARN ribosomique, ARN de transfert, ARN messager), une nouvelle famille de petits ARN dont le rôle principal est de bloquer la traduction en protéines d’ARN messagers porteurs de séquences complémentaires. Parfois même ils

en provoquent la destruction. Ces petits ARN, inférieurs en taille aux ARN de transfert, se comportent donc comme de véritables répresseurs de la traduction génétique ! Ce mécanisme a été dénommé : interférence et les ARN qui en sont responsables : ARN d'interférence.

I.6.2. SI-ARN ET MICRO ARN

On a pu décrire aujourd'hui deux catégories d'ARN capables de provoquer une interférence avec le fonctionnement ou la survie métabolique des ARN messagers :

- Les si-ARN (en anglais : Si-RNA, ou small interfering RNA's) capables de « mettre en silence » l'activité traductionnelle de certains ARN messagers, dont ils provoquent le plus souvent la destruction,
- Les micro ARN (mi-ARN) dont l'importance physiologique apparaît de plus en plus manifeste et qui, comme les précédents, peuvent entraîner la destruction sélective d'ARN messagers ou bloquer leur traduction.

Les si-ARN proviennent de longs « duplexes » d'ARN ou de ds-ARN (double stranded ARN) résultant de l'activité d'enzymes cellulaires appelées, ARN polymérase ARN dépendantes. Ces longs ds-ARN peuvent se former dans la cellule à partir de « transposons », de virus, d'ADN présent dans l'hétérochromatine, voire même d'ARN messagers. Les ds-RNA ainsi formés sont convertis en si-ARN (courtes séquences de 21 – 23 nt). Ceux-ci sont ensuite véhiculés à l'état d'ARN « simple brin », qui s'associent aux ARN messagers au niveau d'une séquence qui leur est complémentaire, grâce à des systèmes complexes de transport et de reconnaissance qui seront décrits ci-après. Ils provoquent alors le clivage des ARN messagers sur lesquels ils se fixent. Ces si-ARN, contrairement aux mi-ARN, ne sont pas conservés au plan évolutif. Ils sont formés occasionnellement à partir de ds-ARN dans des circonstances particulières. Le phénomène d'interférence déclenché par les si-ARN a été mis en évidence pour la première fois expérimentalement en injectant de l'ARN double brin (ds-ARN) chez le ver nématode (cf. *infra*) par A. Fire et C. Mello.

Les micro-ARN, contrairement aux si-ARN, ont été conservés au cours de l'évolution. Ce sont les produits de gènes régulateurs définis, particulièrement abondants dans le règne des eucaryotes. Ces gènes sont souvent disposés en tandems dans l'ADN. L'existence de ces micro-ARN a été rapportée pour la première fois, en 1993, par Lee et collaborateurs (1993). Ces auteurs ont en effet observé que l'un des gènes régulateurs, Lin-4, intervenant dans le contrôle des stades précoces du développement, chez le ver nématode *C. elegans*, ne produisait pas, comme on eût pu s'y attendre, une protéine, mais une

courte séquence d'ARN ! Cet ARN anti-sens agissait en inhibant de manière post-transcriptionnelle, le gène de développement, *lin-14*. Cette observation, assez surprenante à l'époque, fut confortée et explicitée quelques années plus tard dans l'équipe dirigée par A. Fire et par C. Mello (prix Nobel, 2007), grâce à des expériences mettant en œuvre l'injection chez le nématode d'ARN double brin et en démontrant que l'un des deux brins agit en bloquant l'ARN messager transcrit à partir du gène régulateur *unc-2*. De manière rétrospective, ce mécanisme d'interférence fournissait également l'explication des résultats obtenus à la fin des années 80 par R.A. Jorgensen qui, paradoxalement, observait le blanchiment des plans de pétunias qui avaient été traités par des « copies ARN » de gènes impliqués dans la synthèse du pigment pourpre !

Par la suite, Reinhart et coll. (2000) mettaient en évidence un autre gène régulateur, *lin-7*, agissant à un autre stade de développement chez le nématode, en produisant, comme *lin-4*, un ARN antisens de 21 nucléotides. Des observations similaires indiquant que de courts ARN anti-sens sont impliqués dans le contrôle du développement larvaire de *C. elegans* devaient être rapportées par divers auteurs entre 2000 et 2004 (pour une vue d'ensemble cf. D.P. Bartel et C. Zheng Chen (2004)).

Peu à peu, il devait s'avérer que la régulation faisant intervenir de petits ARN anti-sens, capables d'interférer avec des ARN messagers issus de gènes clés du développement, est un phénomène extrêmement répandu. Ce mode de régulation a été observé dans des situations aussi diverses que : le contrôle de la prolifération cellulaire, la mort cellulaire et le métabolisme des graisses chez la *Drosophile*, la morphogenèse du système nerveux chez le nématode, ou le contrôle de la formation des feuilles et des fleurs chez la plante *Arabidopsis*. D'ailleurs, alors que, comme nous l'avons souligné, le système de régulation reposant sur l'action des mi-ARN est très conservé chez les mammifères, on en observe également l'intervention chez les invertébrés. De très nombreuses cibles moléculaires de micro-ARN, ont été identifiées dans ces dernières années, tant chez les plantes que chez les animaux. En 2003, B.P. Lewis, D. Bartell et coll. en avaient déjà identifié plus de 400 chez les vertébrés.

● *Formation – Transport et appariements des micro-ARN (Drosha, Exportine, Dicer et Risc)*

Le mode de transport des précurseurs moléculaires des micro-ARN, du noyau vers le cytoplasme, leur conversion en micro-ARN actifs et leur mode de fixation et d'assemblage au niveau de l'ARN messager-cible, dépendent d'une machinerie cellulaire très complexe qui commence à être bien élucidée (cf. E.P. Murchison et G.J. Hannon, 2004). Les principaux « acteurs » de ces réactions s'intitulent : Drosha, Exportine-5, Dicer et Risc.

Drosha est une ribonucléase de type III (c'est-à-dire une des multiples ribonucléases qui catalysent le clivage des ARN à double brin). L'enzyme est présente dans le noyau des cellules de mammifères (homme, souris...). Le rôle de cette enzyme est de cliver le produit de transcription primaire des gènes codant pour les micro-ARN ou « pri-mi-ARN ». Ces pri-mi-ARN présentent eux-mêmes une structure repliée en « épingles à cheveux ». Le clivage engendre, dans le noyau, un précurseur secondaire du micro-ARN, ou « pré-mi-ARN », autre structure en épingle à cheveux, d'environ 70 nucléotides.

Exportin-5 intervient à l'intérieur du compartiment nucléaire pour transférer le pré-mi-ARN dans le cytoplasme.

Dicer, une autre RNase III, convertit alors le pré-mi-ARN en un micro-ARN de 22 nucléotides à l'intérieur du cytoplasme. Dicer est une enzyme modulaire complexe, formée elle-même de deux domaines « ARN hélicases », d'un module dénommé PAZ et d'un motif de reconnaissance de l'ARN double brin. Le module PAZ est essentiel à la reconnaissance des pré-mi-ARN (au niveau de l'extrémité 3'OH).

« RISC » (acronyme pour « *RNA induced silencing complex* ») prend en charge le micro-ARN mature résultant de la conversion enzymatique par DICER et le met en place au niveau de l'ARN messenger-cible, en facilitant la reconnaissance des séquences complémentaires présentes dans l'un des deux brins du micro-ARN et dans ce messenger. Ce processus « d'apposition » du mi-ARN au messenger cible implique donc un clivage de la boucle simple brin du mi-ARN et la séparation des deux brins qui constituent la tige. Il existe plusieurs types de complexes RISC variant selon les espèces. D'une manière générale, il s'agit de ribonucléoprotéines renfermant des protéines de constitution, appelées « Argonautes » (AGO) et de nombreux facteurs adjuvants dont la nature varie selon les espèces. Les protéines « Argonautes » sont supposées permettre l'incorporation des mi-ARN matures dans le système RISC¹.

Selon les cas, le messenger « cible » est, soit clivé, soit entravé dans sa traduction en protéines, au niveau du poly-ribosome. Le destin intracellulaire des si-ARN et de mi-ARN est donc pratiquement identique. Il implique les mêmes étapes intermédiaires.

1. Chez les plantes, à côté des si-ARN de 21 nt (résistance aux pathogènes, extinction des transgènes...) lesquels constituent une sorte de système immunitaire, on observe une autre catégorie de si-ARN de 24 nt. Ces derniers sont impliqués dans un complexe appelé RITS (*RNA induced transcriptional silencing*). Ce complexe RITS, comme RISC, comporte une protéine argonaute. Toutefois celle-ci s'associe à plusieurs protéines nucléaires. Les si-ARN (24 nt) agissent en « CIS ». Ils sont essentiellement impliqués dans le contrôle du mouvement des éléments transposables et dans le maintien des structures de l'hétérochromatine (H. Vaucheret, séance commune Académie des sciences/Académie d'agriculture sur « Riborégulateurs, nouveaux acteurs dynamiques du développement, 5 décembre 2007).

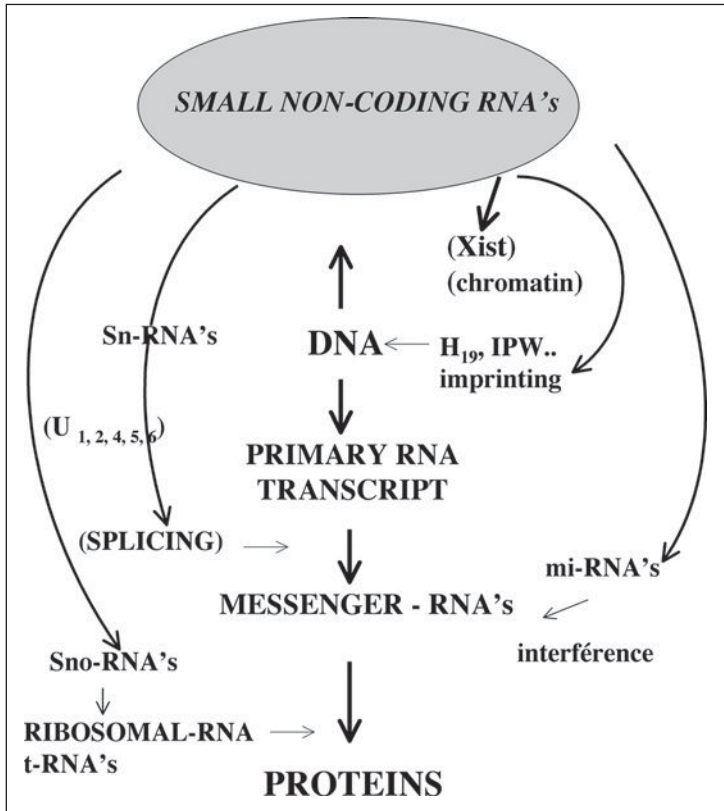


Fig. 5. Le « nouveau monde de l'ARN » – rôle des petits ARN « non messagers »

Schéma montrant la grande diversité des rôles joués par les ARN de petites dimensions moléculaires, non codants, (small non coding-RNA's) dans la physiologie cellulaire : Ribosomal RNA : ARN ribosomique ; t-RNA : ARN de transfert (adaptateur d'acides aminés).

Xist : ARN d'environ 50 nt (nucléotides) intervenant dans l'inactivation du chromosome X (voir texte : épigénèse).

H-19 : intervient dans le processus dit « d'imprégnation génétique parentale ».

mi-RNA : micro-RNA, (21 à 23 nt) : exerce une régulation négative (comme le si-RNA : silencing RNA) sur la traduction de l'ARN messenger par formation d'un hybride moléculaire ARN : ARN.

Sn-RNAs : Small nuclear RNA's : petits ARN nucléaires (de types U, 2, 4, 5, 6) intervenant dans « l'épissage » (« splicing » en anglais). Ce sont des composants des « spliceosomes ».

Sno-RNAs : Small nucleolar RNAs.

ARN de tailles comprises entre 60 et 300 nt intervenant dans la méthylation du ribose des r-RNAs, ou dans la pseudo-uridylation des t-RNAs.

- *Conclusions : l'étonnante pluralité de fonction des ARN*

La découverte des ARN d'interférence (si-ARN, mi-ARN) a eu d'importantes conséquences tant fondamentales qu'en termes d'applications : elle a révélé l'existence, chez les eucaryotes, d'un nouveau et très remarquable, système de régulation post-transcriptionnelle qui serait apparu tardivement au cours de l'évolution ; il n'intervient apparemment pas en effet chez les organismes procaryotiques.

Les phénomènes d'interférence-ARN dépendants sont très répandus chez les végétaux notamment dans les processus de blocage (sorte d'immunité) des virus ou des viroïdes, R. Plasterk a montré par ailleurs qu'ils jouent un rôle majeur chez les eucaryotes animaux en inhibant le rôle invasif des transposons. D'une manière générale, l'attention des biologistes s'est portée sur le rôle que les ARN ont dû jouer, depuis une époque reculée et jouent encore aujourd'hui, dans l'économie cellulaire et dans les processus de développement. Par exemple, nous avons déjà signalé les propriétés que possèdent certaines molécules d'ARN d'agir comme des enzymes (ribozymes). Récemment il a été montré que, dans le processus de traduction génétique, les principales étapes d'allongement de la chaîne polypeptidique qui interviennent au niveau des ribosomes ne sont pas catalysées par les nombreuses protéines de structure de cet organe complexe, comme on l'avait pensé, mais par l'ARN ribosomique lequel fonctionne comme un ribozyme (A. Yonath). On connaît, depuis les années 50, le rôle essentiel des ARN de transfert dans la reconnaissance des codons de l'ARN messager et le positionnement des amino-acides. Les ARN sont également impliqués dans un grand nombre d'autres réactions. Ainsi les spliceosomes, ces organites qui assurent l'excision des introns au cours du processus d'épissage nécessitent pour agir des petits ARN de constitution les sn-ARN qui sont au nombre de 59. Des ARN ont également été décrits comme jouant un rôle essentiel dans l'inactivation du chromosome X ou au niveau de l'hétérochromatine. D'où l'idée, trouvant de plus en plus d'écho, selon laquelle le monde des ARN (dont le rôle avait été en partie sous-estimé, sans doute parce qu'il était éclipsé par celui des ADN) devrait être appelé à réserver encore bien des surprises ! Enfin, et ce n'est pas là une moindre conséquence, les ARN interférents de synthèse font l'objet d'une utilisation croissante. D'une part, en recherche fondamentale, l'étude du rôle physiologique de nombreux gènes d'intérêt (génomique fonctionnelle) est très souvent réalisée en bloquant artificiellement, par des ARN double brins de synthèse, les produits de transcription correspondants. D'autre part, la pharmacopée moderne s'enrichit de nombreux oligo-ribonucléotides de synthèse susceptibles d'intervenir en tant qu'agents thérapeutiques. Le traitement d'infections virales telles que le SIDA, l'hépatite B, etc. pourrait par exemple bénéficier de ces nouvelles technologies.

I.6.3. RETOUR EN FORCE SUR L'ÉPIGÉNÉTIQUE – QUAND L'HÉTÉRODOXIE DEVIENT UN SYMBOLE D'OUVERTURE²

S'il est bien aujourd'hui un concept « à la mode » en biologie, sans doute parce qu'il rejoint une certaine aspiration à une connaissance plus synthétique et plus intégrée du développement et du fonctionnement physiologique chez les organismes supérieurs, c'est bien celui qui se rapporte à l'épigénétique.

Le terme lui-même a bien des sens et ne cesse d'en acquérir de nouveaux à mesure que progressent les recherches sur le développement précoce (ex. : cellules souches et reprogrammation nucléaire), sur l'adaptabilité des organismes vivants à leur environnement, ou encore sur certains de leurs dysfonctionnements (ex. : cancers). D'où l'engouement des chercheurs en sciences de la vie pour ce qui est en train de devenir une véritable discipline. Mais d'où également les difficultés qui s'attachent aujourd'hui à sa définition précise. Le mot « épigénétique » a été introduit et son concept forgé, il y a plus de 6 décennies (1942) par Conrad Waddington. Paradoxalement, alors que dans sa première acception, l'épigénétique répondait au souci de définir l'intervention d'un ensemble complexe de gènes dans le développement embryonnaire, elle allait peu à peu viser à affranchir la biologie du développement, d'une génétique moléculaire à la « Monod Jacob ». En effet, le schéma d'une régulation au niveau de la transcription de l'ADN, en grande partie fondé sur l'étude de l'adaptation des bactéries à leur milieu, bien que partiellement transposable aux organismes eucaryotiques, paraissait et s'avérait insuffisamment adapté à une explication de processus aussi complexes que l'embryogenèse et la différenciation somatique. Désormais, l'épigénétique n'allait donc pas seulement concerner la contribution fonctionnelle d'un très vaste réseau de gènes au développement et à la physiologie des grandes fonctions mais permettre d'accorder une place plus grande aux effets de l'environnement dans la transmission héréditaire (sans aller toutefois jusqu'à revitaliser le néolamarquisme...).

Si cette acception nouvelle, et cette tendance, continuent à prévaloir – avec, en toile de fond un rejet plus ou moins avéré d'un déterminisme génétique (dans sa conception classique) jugé trop strict – la biologie s'attache surtout aujourd'hui aux aspects phénoménologiques du problème. Ainsi, l'une des définitions récentes qui en résulte, est la suivante : « [l'épigénétique c'est] l'étude des changements dans l'expression des gènes qui sont héréditaires, lors de la mitose et/ou de la méiose, et qui ne résultent pas de modification de la séquence de l'ADN » (V.E.A. Russo, R.A. Martienssen and A.D. Riggs, *in Epigenetic Mechanisms of Gene Regulation*, Cold Spring Harbor Laboratory

2. Le lecteur pourra consulter utilement *Biofutur*, n° 243, p. 18-31 (2004).

Press, p. 1, (1996). Plus simplement, on peut donc dire que l'épigénétique s'intéresse aux modalités de transmission de caractères cellulaires spécifiques non codés génétiquement.

Celles de ces modalités qui recueillent jusqu'à présent le plus d'attention, et font, d'ailleurs, l'objet des études les plus approfondies, ont trait à la méthylation de certains sites névralgiques de l'ADN ainsi qu'aux changements biochimiques, plus ou moins réversibles, et sous influence de l'environnement, au niveau des histones, éléments constitutifs de la chromatine. Des circonstances telles que : l'activation ou le verrouillage fonctionnel de grandes portions du chromosome, l'inactivation du chromosome X chez les mammifères, ou encore les phénomènes dits d'« empreinte parentale » (*imprinting*) en fournissent l'illustration.

● Méthylation de l'ADN

Parmi les modifications les plus courantes, de nature épigénétique, capables d'entraîner des changements « héritables » dans le fonctionnement de certains gènes, figurent les méthylations de l'ADN. Ces méthylations sont susceptibles de se produire au niveau des bases A ou C et le groupe méthyle ainsi attaché se localise dans le grand sillon de la double hélice, ce qui influe sur les propriétés de liaisons de l'ADN aux protéines.

Le donneur de groupes méthyles est une molécule universelle caractérisée, il y a plus d'un demi-siècle (G. Cantoni, cf. Schubert *et al.*), la S-adénosyl-méthionine. Quant aux enzymes de méthylation, les méthyltransférases, elles appartiennent à deux catégories : certaines sont capables de méthyler *de novo*, les bases A ou C de l'ADN ; d'autres catégories ne fonctionnent que si l'un des deux brins de la double hélice est préalablement méthylé.

Le processus de méthylation de l'ADN a dû apparaître assez tôt au cours de l'évolution. Il se rencontre déjà chez les organismes procaryotiques telles que les bactéries. Il intervient dans le phénomène dit de « restriction ». Souvent en effet, l'ADN d'une espèce bactérienne définie est méthylé en des sites stratégiques, ce qui confère à celle-ci une immunité particulière. Si un virus à ADN (bactériophage) infeste la bactérie hôte, son ADN non méthylé sera détruit. Curieusement, la méthylation de l'ADN ne s'observe pas, ou seulement de façon exceptionnelle, chez certains organismes eucaryotiques tels que : levure, ver nématode, drosophile, tandis qu'elle est courante chez les mammifères. Ces derniers comportent deux méthyltransférases, pouvant intervenir dans des circonstances différentes. Il s'agit de DNMT-3a et 3b lesquelles peuvent modifier l'ADN *de novo*, tandis qu'une 3^e méthylase, DNMT T-1, n'agit que si l'un des deux brins d'ADN a été préalablement méthylé.

Chez les mammifères, la méthylation n'intéresse qu'un seul motif chimique au sein de la chaîne d'ADN. Il s'agit du dinucléotide CG (encore appelé îlot CpG). En effet, ce dinucléotide se retrouve principalement au niveau des séquences de l'ADN qui servent de sites de démarrage de la transcription ou sites « promoteurs ». Lorsque la cytosine C du dinucléotide est ainsi méthylée, le site promoteur devient inaccessible à la transcriptase. En effet, des répresseurs transcriptionnels particuliers, de la famille MBD, se fixent sur la cytosine méthylée et recrutent, à leur tour, une autre protéine, l'enzyme histone déacétylase (HDAC). Or, lorsque les histones ne sont pas ou ne sont plus acétylées, l'interaction avec l'ADN du nucléosome dont elles sont les éléments constitutifs, est considérablement renforcée. Ainsi la méthylation des îlots CpG du promoteur peut-elle bloquer, de façon permanente et héréditable, le fonctionnement des gènes qui sont sous la dépendance des promoteurs méthylés.

De telles modifications géniques permanentes, consécutives à des méthylation s'observent également dans diverses situations telles que : la répression transcriptionnelle des transposons, le processus d'empreinte parentale ou l'inactivation du chromosome X.

- *Répression transcriptionnelle des transposons*

En ce qui concerne les transposons, nous avons déjà rappelé qu'il s'agissait « d'éléments mobiles » dont les séquences sont fréquemment répétées, pouvant représenter près de 45 % de certains génomes. Ils se propagent souvent au cours des divisions cellulaires, en faisant intervenir un intermédiaire ARN, résultant de leur transcription. Cette propagation peut affecter des régions actives du chromosome et provoquer une interférence néfaste au fonctionnement de nombreux gènes voisins. La cellule a donc développé des processus permettant d'éviter ou de restreindre ce phénomène. À cette fin, elle met en jeu soit des mécanismes d'interférence par l'ARN qui agissent au niveau des produits de transcription de ces éléments mobiles, soit des processus de méthylation massive des transposons proprement dits, ce qui bloque leur transcription et, partant, leur propagation.

- *Empreinte parentale (expression différentielle de certains gènes d'origine paternelle et maternelle)*

Le phénomène d'empreinte (ou d'imprégnation) parentale consiste en ce que certains gènes, environ une cinquantaine chez l'homme, jouant pour la plupart un rôle dans le développement du fœtus, doivent être régulés quantitativement, de façon très précise. C'est le cas, par exemple, du gène codant pour le facteur IGF-₂ (*insulin growth factor type II*) ou H₁₉, etc. Pour atteindre ce but, ces gènes ne sont exprimés qu'au niveau d'une seule des deux copies

chromosomiques qui, au sein des cellules somatiques du fœtus, sont héritées des parents tantôt il s'agit du chromosome maternel, tantôt du chromosome paternel. Or, ici encore, l'effacement fonctionnel des gènes sur l'un ou l'autre de ces chromosomes résulte d'une méthylation de leurs promoteurs aboutissant à une répression transcriptionnelle.

● *Inactivation du chromosome X*

Les cellules somatiques femelles ont un caryotype XX, celles des mâles sont de type XY. Il existe environ 1200 gènes sur le chromosome X humain. Si des réarrangements épigénétiques n'intervenaient pas, les cellules femelles exprimeraient l'équivalent de deux fois ce nombre, contre un seul équivalent chez les cellules mâles. Afin de rééquilibrer ce « dosage génétique », l'un des deux chromosomes X des cellules somatiques femelles subit une inactivation fonctionnelle complète dans les phases précoces du développement de l'embryon femelle, comme cela a été mis en évidence pour la première fois par Mary Lyon en 1961. L'inactivation se traduit par une répression transcriptionnelle au niveau de tous les gènes présents sur l'un des deux chromosomes X. La nature de celui des deux chromosomes X qui est inactivé répond à un processus aléatoire. Elle peut donc correspondre au chromosome X hérité du père ou de la mère, au sein de la cellule embryonnaire femelle. (De ce point de vue, il est intéressant de constater qu'il existe deux populations cellulaires dans l'embryon.)

Le mécanisme intervenant dans l'inactivation sélective du chromosome X a fait l'objet de nombreux travaux que l'on peut résumer ainsi :

Le déclenchement du processus d'inactivation se produit au niveau d'un locus unique ou « centre d'inactivation », appelé Xic. Parmi les gènes présents à ce locus, le plus important parlant (P. Avner et E. Heard – K. Plath *et al.*), code pour un petit ARN, baptisé Xist. Il s'agit d'un ARN non-traduit, de 17kb dont l'expression augmente au début de la différenciation. L'ARN Xist recouvre au début les deux chromosomes X mais, très vite, le gène codant pour sa synthèse est réprimé au niveau du chromosome « actif ». L'ARN Xist non seulement déclenche l'inactivation de l'un des deux chromosomes X mais permet la propagation de cet état inactivé à partir du locus Xic. En suivant le processus chez des cellules embryonnaires de souris, type ES, en cours de différenciation *in vitro*, on a pu clairement établir l'existence d'une première étape, d'inactivation, dépendante de Xist, étape réversible (si le gène codant pour cet ARN est réprimé), suivie d'une seconde étape, irréversible et « indépendante » de Xist.

Au cours de la phase réversible, Xist dépendante, on observe des modifications des histones H₃ et H₄ (méthylation, hypoacétylation) suivies, à partir

du 2^e jour de différenciation des cellules ES femelles, d'une répression transcriptionnelle définitive. Vers le 3^e jour, le chromosome X inactif est répliqué de façon asynchrone par rapport à son homologue actif. Débute alors, la phase d'inactivation irréversible, indépendante de XIST puis, vers le 7^e jour, on dénote la présence dans les nucléosomes d'un variant de l'histone H₂A, appelé macro H₂-A₁. Une méthylation des îlots CpG, au voisinage des promoteurs des gènes, intervient finalement pour assurer le maintien de l'état inactif.

Des données récentes (J. Silya et K. Plath) ont apporté des précisions relatives à la phase réversible des processus inactivateurs. Elles indiquent que l'accumulation de l'ARN Xist sur le chromosome destiné à être inactivé entraîne le recrutement d'un complexe protéique du groupe « polycomb » Eed/Enx-1 qui serait impliqué dans la méthylation des lysines 9 et 27, au sein de l'histone H₃ (cf. *supra*).

● *Modifications des histones et rôle des variants d'histones dans le contrôle épigénétique*

L'inactivation du chromosome X illustre, comme nous venons de le voir, un processus de transmission de modifications épigénétiques faisant intervenir les histones, notamment au cours de la phase correspondant au « verrouillage » définitif du chromosome. En effet, ce verrouillage est « perpétué » au cours des divisions successives des cellules somatiques qui font suite à la différenciation des cellules embryonnaires ; le retour à l'état actif ne se produisant que lors de la méiose précédant la réduction chromatique.

Plus généralement, les histones constitutives des nucléosomes (voir p. 59) peuvent subir diverses modifications et surtout se trouver remplacées au cours du développement par des « variants » dont l'assemblage confère à ces nucléosomes des capacités d'interactions modulables en fonction des étapes de ce développement. Les variants d'histones (dont nous venons de rencontrer un exemple avec l'histone macro-H₂A₁, (cf. *supra*), au cours de l'inactivation irréversible du chromosome X), participent ainsi à la définition structurale et fonctionnelle de domaines génomiques et sont donc des vecteurs d'une information génétique au même titre que leurs modifications post-traductionnelles.

Mais, pour bien comprendre le rôle que peuvent jouer les formes variantes des histones au niveau épigénétique, il nous faut revenir sur quelques généralités relatives à la dynamique d'assemblage des nucléosomes dont on se souvient qu'ils sont constitués par un octamère d'histones « majeures » de formule (H₃, H₄, H₂A, H₂B)₂, cet octamère représentant le « cœur » de la particule nucléosomique.

La chromatine, ensemble compacté d'ADN et de nucléosomes, comporte un mélange d'histones parentales et d'histones néosynthétisées pendant la phase S du cycle de réplication, ces dernières devant posséder les mêmes marques épigénétiques que les histones parentales pour permettre le maintien de l'information épigénétique lors des divisions cellulaires successives. L'assemblage des nucléosomes au contact de l'ADN comporte, en premier lieu, la fixation du dimère H_3-H_4 , suivie par celle des histones H_2A et H_2B . Les histones sont transportées de leur lieu de formation, par des protéines spéciales, propres à chacune d'entre elles et qui les prennent en charge, c'est-à-dire s'attachent à elles et les véhiculent jusqu'à l'ADN. (Ces protéines qui assurent ainsi le trafic intracellulaire d'autres protéines clés, s'appellent des protéines « chaperons », ou chaperonines).

Or, en dehors des quatre types d'histones majeures décrites ci-dessus, on connaît de nombreuses isoformes, appelées histones de remplacement ou variants d'histones (Franklin et Zeidler). Seule l'histone H_4 ne possède pas de variant. H_2A , H_2B et H_3 existent chacune sous deux formes dites 1 et 2 (ex. : H_{2A_1} , H_{2A_2} , etc.) en tant qu'histones majeures. On connaît, chez l'homme, quatre histones de remplacement de H_{2A_1} et H_{2A_2} , à savoir H_{2AX} , H_{2AZ} , Macro H_{2A} et H_2ABbd ainsi qu'une histone de remplacement des formes H_{2B_1} et 2, à savoir TSH $_2B$ et H_2ABbd , et enfin 2 histones de remplacement de H_3 à savoir $H_{3.3}$ et CENP-A.

Le remplacement des histones majeures présentes dans le cœur nucléosomique par certains de leurs variants, confère des propriétés nouvelles aux nucléosomes et, partant, à la chromatine. Bien que minoritaires, ces variants peuvent donc jouer un rôle capital en participant à des fonctions spécifiques de la cellule. Nous avons vu l'exemple de la forme Macro H_{2A} qui devient prépondérante dans les chromosomes X inactivés alors qu'elle est absente des chromosomes actifs. En revanche H_2ABbd en est exclu... Autre exemple, le variant H_{2A-X} sous sa forme phosphorylée serait associé à la chromatine à la suite des cassures double brin de l'ADN (rôle possible dans la réparation) tandis que H_{2A-Z} est concentré au sein des nucléosomes dans la chromatine des embryons, au cours de leur développement précoce. Le variant CENP-A figure de manière spécifique dans la chromatine de « centromère » en remplacement de H_3 et sa présence est associée à l'attachement des kinétochores³. $H_{3.3}$, autre variant de H_3 , remplace cette histone majeure, dans les cellules en phases non prolifératives. Sa présence à la place de H_3 rendrait plus lâches les

3. Kinétochores : Le kinétochore est un assemblage supramoléculaire de protéines au niveau des régions centromériques des chromosomes mitotiques. Il existe deux kinétochores par centromère pouvant chez les mammifères interagir avec 20 à 40 microtubules.

liaisons de dimérisation du couple H_3 - H_4 et favoriserait de ce fait l'interaction des transcriptases et de l'ADN.

Ainsi que nous l'avons signalé, les différentes isoformes d'histones, comme d'ailleurs les histones majoritaires, sont mises en place par des protéines chaperonnes. Ainsi, la protéine CAT-1 intervient dans l'assemblage des histones H_3 et H_4 nouvellement synthétisées et de façon couplée à la synthèse d'ADN. Pour sa part, le variant $H_{3.3}$ dépend, pour son insertion dans le nucléosome, de son interaction avec la protéine chaperonne baptisée HIRA. Cette mise en place, contrairement à celle de la forme H_3 -1 est indépendante de la réplication.

Une question cardinale se pose, face à la subtilité et à la diversité des changements pouvant être produits au niveau de la chromatine par le jeu des combinatoires possibles d'histones au sein des nucléosomes. Elle concerne le maintien épigénétique de ces changements à la faveur des divisions cellulaires. La réponse réside, selon toute probabilité dans le modèle semi-conservatif, tel qu'il a été postulé pour l'assemblage des nucléosomes. Tout porte à croire, en effet, qu'au cours de la réplication de l'ADN, le nucléosome se dissocie en demi-nucléosomes, lesquels restent attachés à chacun des brins d'ADN présent dans la fourche de réplication. Pour prendre l'exemple du tétramère $(H_3-H_4)_2$, ce complexe se dissocierait en deux dimères H_3 - H_4 , capables de se répartir de façon aléatoire sur chacun des brins d'ADN fils. Au contact de chacun de ces dimères H_3 - H_4 parentaux, se reconstituerait un tétramère par appariement avec un dimère H_3 - H_4 néosynthétisé. Ainsi pourrait se maintenir sur chaque brin d'ADN, après réplication, la marque épigénétique parentale.

I.7. DE LA BIOLOGIE CONTEMPORAINE AUX DÉFIS DU DÉVELOPPEMENT*

I.7.1. RÉFLEXIONS SUR LA BIOLOGIE CONTEMPORAINE

Ainsi, et comme nous venons de le voir dans la première partie de cet ouvrage, après sa longue période « naturaliste » qui s'est surtout étendue de la fin du XVIII^e siècle au milieu du XX^e, puis après ses tentatives pour s'inspirer de la précision et de la rigueur des lois physico-chimiques (du début de la physiologie expérimentale à l'enzymologie), la biologie s'est enfin tournée vers l'exploration de l'infiniment petit cellulaire et moléculaire. Les gènes et les macromolécules sont devenus – et sont toujours d'ailleurs – ses objets d'étude favoris.

Mais les sciences de la vie se trouvent confrontées à de nouveaux défis qui sont, pour l'essentiel, de deux ordres. Le premier est d'ordre méthodologique. Le second est en relation avec les préoccupations du monde contemporain, face aux problèmes généraux de notre société et de notre environnement. D'un côté, en effet, comment aller plus loin dans la recherche car il faut bien, désormais, que les biologistes s'efforcent d'organiser et de replacer, dans un cadre logique (et exploitable), les innombrables données issues de l'analyse moléculaire. Depuis l'essor de la génomique, en effet, les chercheurs (et leurs bases de données) disposent d'une multitude d'informations concernant les gènes nouvellement identifiés, leurs produits d'expression (acides nucléiques, protéines), leurs éléments de régulation, leur conformation dans l'espace, leurs modes d'interaction... Il faut donc passer du « descriptif moléculaire » à de vrais modèles, de vrais schémas « interprétatifs », compatibles avec les fonctions cellulaires et la physiologie des organismes vivants dans leur intégrité. Pour répondre à ce défi, la biologie contemporaine tente d'établir, en s'aidant de

1. Résumé de la 1^{re} partie et avant-propos pour la 2^e.

l'informatique et des techniques de simulation virtuelle, de nouveaux schémas d'interaction moléculaire en réseaux. Il lui incombe, en outre, d'examiner dans quelle mesure ces réseaux complexes permettent de « prévoir » les effets exogènes qui s'exercent sur les cellules, les tissus ou l'organisme entier. On peut, par exemple, « modéliser » ainsi le fonctionnement d'un organe comme le cœur, en intégrant dans ce modèle toutes les données moléculaires biochimiques ou autres que l'on possède, et vérifier sa compatibilité avec ce que l'on sait du fonctionnement homéostatique du cœur... Cette « biologie des systèmes » présente certes un grand intérêt par son approche intégrative et prédictive. On pourrait néanmoins s'interroger sur le risque encouru par cette approche nouvelle de la biologie de « tourner le dos » au monde du vivant, tel qu'il se présente à nous, dans sa formidable diversité morphologique et comportementale. La biologie des temps présents allait-elle traverser une « crise identitaire », face à l'emprise conjuguée de la génomique, de la bioinformatique et des modèles en devenant par trop réductrice en quelque sorte ?

De fait, ce risque, fort légitimement évoqué, ne semble pas se présenter. Par exemple, la plupart des acquis de la biologie moléculaire du gène et du génome – comme d'ailleurs ceux de la biologie du développement – sont au contraire devenus de remarquables outils d'approfondissement pour des disciplines plus traditionnelles de la biologie tournées vers l'observation, la description, l'étude comparative des êtres vivants. On pense notamment ici aux recherches concernant l'évolution, la taxinomie, mais aussi à celles tournées vers le développement cellulaire, la différenciation des tissus, la physiologie de fonction, ou la physio-pathologie, etc.

En outre, du même coup – et cela nous ramène à l'autre grand défi qui se pose à elles aujourd'hui – la biologie et la génétique moléculaires sont devenues des composantes très importantes de la médecine moderne, de la pharmacologie, de l'agriculture... Elles permettent souvent de formuler, de façon beaucoup plus précise qu'autrefois, les questions et préoccupations concrètes liées à l'environnement. Elles devraient être à même d'apporter des réponses nouvelles à certaines de ces questions. Car ce qui est en train de changer c'est une perception grandissante par la société d'aujourd'hui quant à la fragilité de notre développement. Cela transparaît, par exemple, à travers des phénomènes aussi divers que l'apparition de nouvelles menaces sur la santé (agents pathogènes, pollutions, vieillissement des populations), un accroissement démographique préoccupant, les dangers d'un développement urbain accéléré, les nouvelles difficultés à nourrir les hommes, les effets des changements climatiques, etc. D'où les questions que se posent, non plus seulement les « grands de ce monde », réunis dans des sommets internationaux, mais le public dans son ensemble : comment assurer un développement économique

durable qui soit compatible avec plus d'équité dans l'accès aux ressources de la planète et aux soins, tout en évitant ce qui pourrait provoquer des atteintes irréversibles à sa survie ? Comment concevoir le rôle des sciences en cette affaire et, notamment, celui de la biologie ?

I.7.2. QUE PEUVENT LES SCIENCES POUR UN DÉVELOPPEMENT DURABLE ? LE RÔLE DE LA BIOLOGIE

Il est clair que lorsque l'on évoque les facteurs essentiels aux avancées nécessaires en faveur d'un développement durable, les sciences ont là un rôle majeur. Nous l'avons déjà souligné. En ce sens, toutes les disciplines des sciences se trouvent concernées, comme le sont les applications qui en dérivent : la mécanique et la physique, autant que les géosciences et, dans leurs approches analytiques ou synthétiques, les mathématiques, l'informatique, etc. ainsi que toutes ces disciplines réunies autant que les sciences du vivant et les biotechnologies. Construire des habitats décents, tracer des routes, assurer des transports efficaces, économiser l'énergie sont autant de démarches susceptibles d'améliorer l'hygiène, de rompre l'isolement des hommes ou de répondre à certains dérèglements écologiques.

Pourtant, en cette grande affaire, la biologie, les biotechnologies ont ici, un statut particulier et un rôle dont l'importance justifie, pensons-nous, le présent ouvrage.

D'abord parce que tout ce qui touche à l'environnement planétaire, à la géosphère, retentit sur les équilibres biologiques, sur l'homme, les animaux et les plantes, sans parler des micro-organismes. Ensuite, parce que, si ne sont pas pris en compte des impératifs essentiels tels que celui de la santé, il est bien difficile de parler de croissance économique, pire encore si la faim vient s'ajouter au cortège des maladies ou si l'eau douce vient à manquer pour l'agriculture. Symétriquement, en quelque sorte, l'homme « être pensant » mais aussi être fonctionnant selon des lois biologiques modifie l'environnement biologique dont il est tributaire ce qui rend désormais nécessaires une meilleure connaissance des équilibres écologiques et de nouveaux moyens pour les respecter. Ainsi, bien des considérations rattachables au développement nous ramènent à la biologie et à ses applications médicales, agronomiques et environnementales.

C'est pourquoi, dans la première partie de cet ouvrage, nous avons tenté d'expliquer au lecteur, certains aspects du long, mais décisif cheminement, de la biologie. Dans le chapitre suivant, nous nous efforcerons de montrer ce

que la biologie – dans ses méthodes et ses applications – peut apporter à la solution de certains des grands défis implicites au problème du développement durable. Nous examinerons, dans ce but, quelques-unes des grandes facettes de ce problème, qu’il s’agisse de la santé et des parades aux menaces planétaires qui pèsent sur elle, de l’agriculture et des solutions susceptibles d’améliorer la productivité alimentaire ou de l’environnement envisagé à la fois sous l’angle des grands problèmes énergétiques ou de la biodiversité.

Mais, avant d’entrer dans le vif de ces différents sujets, tentons ici d’en donner un bref aperçu.

I.7.3. SANTÉ

En ce qui concerne certains des grands problèmes relatifs à la santé humaine, tels que les maladies émergentes, les maladies génétiques, les cancers, les maladies neurodégénératives, les zoonoses, les affections à prions mais aussi, et sur un autre plan, le vieillissement de la population, il apparaîtra que, tant dans la connaissance des mécanismes de survenue des maladies (transmissibles ou non) que dans les démarches diagnostiques ou thérapeutiques, la génétique joue aujourd’hui un rôle considérable. Elle intervient, par exemple, dans la caractérisation des nouveaux agents pathogènes ou dans celle de leurs vecteurs, dans l’établissement des causes de leur virulence, ou du degré de résistance que peut manifester l’hôte à leur égard. Le séquençage des génomes viraux ouvre d’importantes perspectives à la conception des nouveaux vaccins. La possibilité de purifier les gènes eucaryotiques par les techniques du génie génétique et de les identifier, a révolutionné la nosologie des maladies génétiques. La biologie de la cellule cancéreuse (avec son cortège de mutations ou de modifications épigénétiques affectant les gènes sentinelles (suppresseurs) qui s’opposent aux mutations malignes (oncogènes)) a, elle aussi, considérablement progressé. C’est encore ici la génétique et la biologie moléculaire qui fournissent les clés explicatives à l’étonnant phénomène de mort cellulaire programmée (apoptose) intervenant non seulement dans la différenciation naturelle de nos tissus et dans nos défenses contre les cellules cancéreuses, mais aussi dans certaines pathologies dégénératives. Mais il est un autre domaine de la biologie générale et humaine qui est le siège d’une révolution récente. C’est celui qui touche au développement cellulaire et à la reproduction. Il bénéficie des avancées spectaculaires dans l’isolement et la connaissance des cellules souches, prélude à une vraie médecine régénérative. Les perspectives tracées ici sont considérables. Peut-être disposerons-nous demain d’une véritable thérapie cellulaire couvrant un nombre élevé de maladies y compris de graves maladies neurodégénératives dont la fréquence augmente avec l’âge moyen des populations ? Enfin, la découverte relativement

récente des prions, ces protéines capables d'adopter des conformations anormales et transmissibles sans le concours du matériel génétique (ADN ou ARN) est venue également bousculer bien des concepts fortement ancrés de la biologie moléculaire en dévoilant les mécanismes de toute une série de maladies jusqu'alors un peu mystérieuses de l'homme et des animaux (kuru, Creutzfeld-Jakob, encéphalites spongiformes bovines). Les conséquences psychosociales, économiques et en matière d'hygiène alimentaire en ont été considérables. Or ces découvertes ont, non seulement, été rendues possibles par les travaux des épidémiologistes et des médecins, mais aussi grâce à la biologie dite « structurale » tournée vers l'agencement cristallographique des protéines.

Il est donc évident, à travers ces rappels schématiques, que l'osmose est de plus en plus étroite entre la biologie la plus fondamentale dont nous avons retracé les grandes lignes à travers la première partie de l'ouvrage et la plupart des domaines touchant à la santé.

I.7.4. AGRICULTURE

Mais la même remarque peut s'appliquer au grand secteur de l'agriculture et de la nutrition. Nourrir les hommes dans le monde de demain demandera, là comme dans la préservation de la santé humaine, de gros efforts face aux difficultés déjà rappelées ci-dessus que sont : l'accroissement démographique – surtout dans les pays émergents – le fléau de la malnutrition et de la faim en Afrique et en Asie du Sud, les menaces pesant sur l'approvisionnement en eau, la progression de la sécheresse, la limitation des surfaces arables, les contraintes liées à la sauvegarde de l'environnement, etc.

Certes, de tout temps, l'homme a eu recours pour se nourrir, conserver ou transformer les aliments, à des procédés que nous qualifierions aujourd'hui de « biotechnologiques » ! Mais le véritable coup d'envoi des biotechnologies modernes, que celles-ci soient d'ailleurs d'orientation médicale ou agricole, a sans doute accompagné l'essor du génie génétique et des anticorps monoclonaux, suivis par la révolution génomique que nous avons abondamment évoquée dans la première partie de l'ouvrage. Aujourd'hui la physiologie des plantes bénéficie, dans son étude et dans ses applications, de la connaissance de plus en plus fine de ce que l'on dénomme les gènes d'intérêt ; ceux qui jouent un rôle clé dans la croissance, la robustesse, la résistance aux stress biotiques (insectes, virus) et abiotiques (sécheresse, température, salinité, etc.) ou encore dans la synthèse et le stockage des éléments nutritifs. Les données génétiques permettent donc souvent un suivi, un « monitoring » de ces principales caractéristiques dont peut tirer parti l'agriculture traditionnelle.

Mais surtout, et c'est là sans doute que réside le tournant majeur, il existe aujourd'hui de multiples possibilités de faire acquérir aux plantes vivrières des propriétés qui en améliorent la production ou l'utilisation, à des fins agroalimentaires ou autres. Ces possibilités dérivent, en effet, de la transgénèse végétale. Il est possible de modifier les végétaux par le transfert d'un ou de plusieurs gènes, que ceux-ci proviennent d'autres espèces végétales ou de bactéries. Ces plantes, dites « transgéniques », dont les plus connues possèdent des caractères de résistance aux insectes ou à la sécheresse, commencent à être cultivées à une échelle non-négligeable (plus de 100 millions d'hectares), dans différentes parties du monde sans que soient levées il est vrai – notamment en Europe – certaines réserves ou oppositions avérées.

La transgénèse a d'ailleurs également été appliquée aux animaux d'élevage, depuis les poissons jusqu'aux mammifères mais, contrairement aux plantes génétiquement modifiées, les animaux transgéniques ne connaissent pour l'heure qu'une exploitation modeste.

Mais la transgénèse ne constitue pas la seule application dérivant de la biologie contemporaine au sein du règne végétal. La connaissance récente des mécanismes d'interférence que mettent en œuvre les petites molécules d'ARN dépourvues d'activité codante mais capables d'empêcher la traduction des ARN messagers, voire de les détruire, est en train de renouveler très profondément nos conceptions relatives à la défense des plantes contre les virus. Elle est d'ailleurs en passe de déboucher sur la fabrication d'oligonucléotides synthétiques, en tant que nouveaux agents de lutte contre les phytovirus.

I.7.5. ENVIRONNEMENT-BIODIVERSITÉ-ÉVOLUTION

Enfin, s'il est bien un domaine où biologie moléculaire, génomique mais aussi bioinformatique sont devenues des auxiliaires indispensables à la préservation du patrimoine et des ressources vivantes – et là presque par définition – c'est bien celui de la biodiversité. D'une part, en effet, nous en connaissons les menaces (changement climatique, pollution, développement urbain accéléré, certaines pratiques de pêche hauturière, etc.). Mais d'autre part, face à l'immensité du défi que représentent le recensement des espèces vivantes inconnues, animales ou végétales et, plus encore, celui des micro-organismes, les spécialistes ont recours croissant à des techniques comparatives où la génétique, la connaissance des génomes, de leurs variations et de leurs mutations, de même que l'étude de la séquence des protéines, jouent désormais un grand rôle.

Déjà l'étude approfondie des ARN présents dans les ribosomes (ces organites universels servant de supports aux biosynthèses des protéines

cellulaires), étude théorique par excellence, avait permis à Carle Woese de découvrir un règne vivant entièrement insoupçonné, celui des Archées, êtres unicellulaires, intermédiaires par leurs propriétés entre les bactéries véritables et les cellules des organismes supérieurs. Or, depuis quelques années à peine, les techniques les plus récentes de la génomique appliquées à des échantillons bruts d'ADN provenant (après amplification) des environnements les plus complexes, conjuguées au traitement des données de séquences par les procédés informatiques – ce que l'on appelle aujourd'hui la métagénomique – vont permettre d'écrire un tout nouveau chapitre du monde de l'infiniment petit cellulaire : bactéries, protozoaires ou algues unicellulaires, un monde dont un très faible pourcentage des représentants (souvent guère supérieur à 1/100) a été recensé et catalogué. Ainsi se tracent de toutes nouvelles perspectives à la microbiologie du sol, à l'étude de la microbiologie marine ou à celle des bactéries symbiotiques intervenant dans les flores intestinales.

La génétique et la génomique ne sont d'ailleurs pas les seules disciplines de la biologie auxquelles il est fait appel aujourd'hui pour explorer la diversité des espèces et établir leur filiation. La biologie du développement dont nous avons parlé dans la première partie du livre, celle notamment qui explique comment sont mis en place, sous contrôle génétique, les grands « plans d'organisation segmentaire » du corps (tels que tête, tronc, membres chez les vertébrés, tête, thorax, abdomen, pattes, ailes chez les insectes, etc.), apporte des éclairages complémentaires et nouveaux à la Systématique (et à l'évolution). En effet, « on comprendra qu'une part essentielle des différences morphologiques qu'étudient les systématiciens, peut être comprise comme résultant d'altérations génétiques plus ou moins subtiles dans les processus de mise en place du plan d'organisation des espèces, de la détermination de la taille et de la forme des organes, ou encore des détails de leur ornementation et de leur différenciation terminale » (André Adoutte *in* « Systématique, ordonner la diversité du vivant », rapport RST de l'Académie des sciences, n° 11, oct. 2000, p. 96).

Ce champ nouveau qui s'ouvre par le rapprochement de la systématique évolutive et de la biologie du développement – que dans leur jargon les spécialistes dénomment familièrement « EVO-DEVO » – confère un nouvel éclairage à l'étude de la diversité biologique. On ne se contente plus, en effet, d'utiliser des approches moléculaires (comme les comparaisons des séquences de gènes ou de protéines) comme outils permettant d'établir des relations évolutives entre organismes, on s'efforce de caractériser les gènes susceptibles de fournir des explications aux changements morphologiques. En d'autres termes, il ne suffit plus d'enregistrer et de classer la diversité morphologique, encore faut-il avoir l'ambition d'expliquer sa genèse.

I.7.6. REMARQUES GÉNÉRALES

En conclusion, les sciences biologiques, souvent dans leur acception la plus fondamentale ou qui peut paraître la plus éloignée de l'application, ouvrent donc des perspectives nombreuses à la connaissance, à la compréhension et parfois aussi à la solution de certains des grands problèmes contemporains touchant au développement durable.

Dans bien des cas, il est vrai, il y a encore loin des recherches à leur traduction concrète. Le plus souvent la biologie, nous le verrons dans le chapitre suivant, fournit les outils diagnostics, aide à préciser et prévoir les risques, que ce soit au chapitre des maladies par exemple ou à celui des atteintes à la biodiversité. Dans d'autres cas, elle permet déjà d'entrevoir des solutions neuves (ex. : protection et amélioration des ressources végétales ou, sur d'autres plans, lutte contre certaines maladies dégénératives plus ou moins liées au vieillissement, apport de sources d'énergies moins génératrices de CO₂, fabrication de nouveaux agents pharmacologiques mieux adaptés à leur cible moléculaire et au terrain individuel).

La biologie est donc devenue une sorte de commun dénominateur dans l'abord scientifique des problèmes de développement. Pour autant, elle n'est certes pas la seule démarche des sciences appelée à les résoudre tels qu'ils se posent aujourd'hui à l'homme confronté aux aléas de la « planète-terre » et à l'évolution démographique. Elle s'appuie d'ailleurs elle-même sur une instrumentation des techniques, voire des méthodes inspirées des autres disciplines des sciences. Elle ne peut intervenir utilement sans être constamment attentive aux sciences sociales et humaines, à l'épidémiologie, à l'éthique... Bref, elle ne peut agir que dans un cadre interdisciplinaire très large, faute de quoi elle resterait repliée sur elle-même, de peu d'impact extérieur. Mais c'est probablement là que résident aujourd'hui l'une de ses fiertés comme de ses chances : celles d'offrir désormais une remarquable occasion de convergence intellectuelle, technologique et stratégique, à la fois dans la perception de notre développement futur et pour accompagner celui-ci de façon positive.

DEUXIÈME PARTIE

LA BIOLOGIE
ET LES GRANDS DÉFIS
DU DÉVELOPPEMENT

II.1. SANTÉ

II.1.1. MALADIES INFECTIEUSES (RENOUVEAU DE LA MICROBIOLOGIE, VACCINS, DIAGNOSTICS ET THÉRAPEUTIQUES ANTI-VIRALES, ZONOSSES, MALADIES À PRIONS)

II.1.1.1. Le retour des maladies infectieuses – Les maladies de la pauvreté – Maladies tropicales négligées

L'une des composantes principales des « objectifs du millénaire » est la diminution sensible de la mortalité et de la morbidité consécutives aux maladies infectieuses.

Au cours des décennies qui ont suivi la fin de la Seconde Guerre mondiale, l'illusion a été caressée par une partie des populations que le spectre des maladies transmissibles devenait moins préoccupant et que, dans les pays du Nord, tout au moins, la Santé publique devait prendre davantage en compte les maladies non transmissibles liées aux nouveaux modes de la vie moderne. Il est vrai qu'à partir de 1960, on a assisté, pour les trois décennies suivantes, à un accroissement significatif de l'espérance de vie laquelle, en dépit de disparités en valeur relative d'une région du monde à l'autre, a concerné les pays en développement au même titre que les autres. Les campagnes de vaccination à grande échelle qui ont eu raison de la variole puis, pratiquement, de la poliomyélite, l'usage des antibiotiques et une meilleure prise en compte des problèmes de santé publique par les organisations internationales ont été à cet égard, des facteurs essentiels de cette évolution positive. Cette relative euphorie a d'ailleurs eu pour conséquence un certain ralentissement dans l'enseignement de la microbiologie générale.

Or, vers la fin des années 70, au sein de l'OMS et d'autres organisations internationales, les préoccupations vis-à-vis des maladies infectieuses

ont resurgi avec force. D'une part, les espoirs placés dans l'utilisation des nouveaux insecticides pour lutter contre les maladies parasitaires, comme la malaria, ont été quelque peu ébranlés. D'autre part, il n'existait pas (et n'existe toujours pas) de vaccin anti-malarique et les phénomènes de « variations antigéniques », tels ceux observés chez les trypanosomes, font que de nombreux parasites, comme d'ailleurs divers virus, ont souvent raison des protections vaccinales. La tuberculose que l'on croyait en voie de disparition a resurgi de manière très importante. Enfin, et surtout, à partir de 1979, près de 30 nouvelles maladies transmissibles de l'animal à l'homme (zoonoses) ont été découvertes, maladies incluant notamment l'Ebola, le VIH/SIDA et de nouvelles formes d'influenza, etc. La pandémie du SIDA a causé les ravages que l'on sait et continue de représenter, encore aujourd'hui, l'une des causes premières de mortalité attribuable à une maladie infectieuse, suivie par le paludisme et la tuberculose. Ces trois maladies, parfois dénommées « maladies de la pauvreté » (OMS) constituent donc aujourd'hui les cibles prioritaires de plusieurs organisations internationales ou d'ONG, etc. et, notamment, du grand projet international « DCPP » (« *Disease control priorities project* ») qui coordonne les efforts et réunit les moyens d'action, du Centre international Fogarty, de l'Institut national de la Santé des États-Unis, de la Banque mondiale, de l'OMS, du Bureau de référence des populations (*Population Reference Office*) et de GAVI (Bill et Melinda Gates Foundation).

Il convient de remarquer que, contrairement à l'accroissement de l'espérance de vie moyenne observé dans la plupart des régions du monde, c'est à un fléchissement auquel on assiste en Afrique subsaharienne et en Asie du Sud, lequel est lié pour une large part à la mortalité consécutive au SIDA.

Selon les études récentes conduites au sein du DCPP, les maladies transmissibles (infectieuses et parasitaires) sont responsables pour près de 60 % et 31 % du total des problèmes de santé publique en Afrique subsaharienne et Asie du Sud, respectivement. Plus précisément, le VIH/SIDA, le paludisme, la pneumonie, et les maladies diarrhéiques sont les maladies infectieuses prédominantes dans ces deux régions du monde. L'Afrique subsaharienne paie le plus lourd tribut au VIH/SIDA, au paludisme, aux oreillons et aux maladies sexuellement transmissibles. C'est d'ailleurs la seule région du monde où les maladies transmissibles constituent le facteur n° 1 de mortalité contrairement aux autres régions où ce sont les maladies cardiovasculaires qui prédominent. Il existe d'ailleurs, dans les pays tropicaux, une palette de maladies graves qui, jusqu'à présent, n'ont qu'assez peu retenu l'attention des Nations, des organisations internationales ou des grandes entreprises pharmaceutiques capables de les combattre. On les a dénommées « maladies tropicales négligées » (en anglais : *Neglected tropical diseases*). Elles ne doivent pas être confondues

avec les maladies « orphelines » qui, du fait de leur rareté, n'incitent guère à des stratégies thérapeutiques ou à des recherches concertées, mais qui n'ont pas de prévalence dans les pays du Sud.

Ces maladies tropicales négligées sont le plus souvent provoquées par des parasites (protozoaires, vers, bactéries). Ce sont les maladies de la misère et du manque d'hygiène frappant de nombreuses personnes des pays pauvres. Parmi les plus courantes figurent : la maladie du sommeil, la filariose, l'onchocercose (cécité des rivières), le trachome, la lèpre... Il est significatif que, sur les 1393 nouvelles molécules mises au point entre 1975 et 1999, 16 seulement (un peu plus de 1 %) étaient destinées à ces maladies tropicales !

Toutefois, les grandes autorités politiques, sanitaires et humanitaires mondiales commencent à se mobiliser dans le cadre de l'action intitulée « *Drugs for neglected diseases initiative* » ou DNDI lancée par « Médecins sans Frontières ». La Fondation Gates, qui a déjà versé près d'un milliard de dollars dans la lutte contre les maladies tropicales (dont le paludisme) est précisément en train d'orienter une partie de ses efforts vers les maladies négligées. Une nouvelle revue « *PLOS-neglected tropical diseases* » (PLOS : *Public library of Sciences*) a été créée en 2003.

La déclaration récente du Dr Margaret Chan, directeur général de l'OMS, résume bien l'état d'esprit contemporain à l'égard de la menace infectieuse généralisée et la remontée des préoccupations médicales : « *l'accroissement démographique, le peuplement de territoires jusque-là inhabités, l'urbanisation rapide, l'agriculture intensive, la dégradation de l'environnement, l'utilisation malencontreuse des antibiotiques et autres anti-infectieux, tous ces facteurs ont bouleversé l'équilibre du monde microbien...* ».

Dans ce chapitre, nous discuterons notamment des thèmes suivants :

- la microbiologie et son renouveau (apports de la génétique moléculaire),
- la vaccinologie (nouvelles tendances),
- les zoonoses et maladies à prions,
- le diagnostic et les thérapies des maladies virales.

II.1.1.2. La microbiologie et son renouveau

● *Considérations générales*

Avant d'évoquer les divers signes du renouveau actuel de la microbiologie, il convient de rappeler brièvement quelles ont été les étapes

marquantes de cette science, longtemps considérée comme la discipline « phare » de la Biologie.

Après que Louis Pasteur a fait justice de la théorie de la « génération spontanée » et révélé la présence des germes bactériens dans l'environnement, la théorie « une maladie, un germe » allait susciter une véritable floraison de travaux conduisant à l'identification de multiples agents infectieux : bacille de la lèpre (A. Hansen, 1873), blennorragie (Neisser, d'où le genre « *Neisseria* », 1879), fièvre puerpérale (E. Roux, 1879), hématozoaire du paludisme (A. Laveran, 1880), bacille de la typhoïde (K. Ebert, 1880), agent de la fièvre jaune (D. Ross et C. Finaly, 1881), bacille de la tuberculose (R. Koch, 1882) et ceux de la diphtérie (E. Klebs, 1882, d'où le genre « *Klebsiella* » !), du choléra (R. Koch, 1883), du tétanos (A. Nicolaïes, 1884), de la peste (A. Yersin, 1894), de la syphilis (découverte du *spirochete* par F. Schaudinn, 1905). La théorie microbienne développée par L. Pasteur, appelée aussi « théorie des germes » conduira à la mise au point des premiers vaccins modernes (cf. chapitre II.1.1.3 « vaccinologie »). Quant à Robert Koch, l'un des premiers prix Nobel en physiologie et médecine (1905), il a clairement établi les postulats méthodologiques qui furent à l'origine de l'isolement des germes pathogènes. Ces postulats reposent sur l'association physique du microbe avec la maladie et son absence chez le sujet sain, sur la possibilité de son isolement à partir du malade et sa mise en culture, et sur la vérification selon laquelle le microbe cultivé, injecté à un animal sain cause la maladie avec ses symptômes caractéristiques, ce même micro-organisme devenant isolable de l'hôte malade. C'est surtout, comme l'on sait, la mise en évidence de l'agent de la tuberculose, maladie très répandue à l'époque, qui devait établir sa renommée et susciter les premières mesures de prophylaxie et de lutte (dispensaires...). En 1924, Calmette et Guérin mettent au point le BCG mais, c'est au milieu du xx^e siècle, avec la découverte de la streptomycine (Waksman, 1952) que cette grave maladie commence à reculer pour trois à quatre décennies avant de réapparaître dans diverses régions du monde (perte d'efficacité du BCG, insalubrité, préconisation insuffisante ou mal suivie des traitements antibiotiques, multi-résistances aux antibiotiques...).

• *Les facteurs d'un renouveau en microbiologie*

Comme nous venons d'en évoquer les raisons, à la fois parce que l'on pensait plus ou moins avoir maîtrisé les épidémies de maladies contagieuses (du moins dans les pays du Nord) comme la tuberculose, la typhoïde, etc. mais aussi du fait des progrès spectaculaires de la biologie moléculaire et de la biologie du développement, la microbiologie faisait un peu figure de « parent pauvre » notamment à partir des années 70. L'idée prédominait, plus ou moins consciemment, dans le public que le recensement des microbes pathogènes

majeurs était terminé et que les antibiotiques constituaient une parade efficace à la plupart des maladies causées par ces pathogènes. La biochimie et la biologie moléculaire allaient susciter d'ailleurs bien davantage de vocations parmi les jeunes chercheurs que la microbiologie.

Pourtant, c'est précisément de par sa capacité extraordinaire à « absorber », en quelque sorte, les autres disciplines de la biologie (génomique, biologie structurale, biologie cellulaire, immunologie, etc.) que la microbiologie a retrouvé sa vitalité. On assiste, en effet, au développement de nouvelles approches à l'étude de la pathogénicité bactérienne, grâce à la biologie moléculaire et à la génétique avec le souci d'approfondir les mécanismes de cette pathogénicité ainsi que ceux qui interviennent dans les défenses des organismes infectés.

● *Génomique et virulence*

Ainsi, la génomique permet-elle d'expliquer assez clairement la virulence (transmissibilité, létalité) de certains micro-organismes ou de certains virus. On sait par exemple que la bactérie *E. coli* est à l'état normal un membre bénéfique de la flore intestinale humaine. Or, en 1983, a été isolée une nouvelle souche (un nouveau sérotype) d'*E. coli*, nommée O 157-H7 au cours d'épisodes diarrhéiques apparus aux États-Unis, souche qui s'avérera très virulente. La comparaison des gènes entre O 157-H7 et la souche K₁₂ de référence, révéla que si les deux souches ont un « tronc commun » de 4,1 millions de paires de bases, sans doute hérité de la souche ancestrale, elles diffèrent néanmoins par la présence additionnelle chez le représentant « virulent », de régions génomiques ou « îlots ». Ces « îlots-“O” », ainsi dénommés, contiennent près de 1400 gènes sur les 5400 de la bactérie. Inversement 530 000 paires de bases de la séquence K₁₂ (îlots k) font défaut, chez O157-H7 (Perna N.T. *et al.*, *Nature* 409, 529, 2001). Parmi les 1400 gènes apparentés aux îlots de type “O”, nombre d'entre eux se sont révélés être des gènes de pathogénicité. Une autre illustration des éclairages que peut fournir la génomique comparée, réside dans les études menées sur *Mycobacterium tuberculosis* et *Mycobacterium lepre* (agent de la lèpre), études suggérant une forte corrélation évolutive, le bacille de la lèpre dérivant du bacille de Koch, d'après son génome, par perte de nombreux gènes de réplication.

Un exemple saisissant des apports de la génétique à l'étude de la virulence résulte également de travaux récemment entrepris sur le virus de la grippe espagnole. Des chercheurs ont, en effet, réussi à « ressusciter » le virus de la grippe espagnole de 1918, en utilisant l'ADN d'une victime retrouvée congelée dans l'Alaska (*Science*, 7 octobre 2005, p. 28) ! D'autres équipes y ont introduit artificiellement quelques mutations très ponctuelles (un changement

de la séquence en aminoacides) dans une protéine du virus, l'hémagglutinine laquelle permet sa fixation sur des récepteurs glycoprotéiniques présents dans les cellules pulmonaires. Ils ont ainsi pu établir qu'il suffit de deux changements en aminoacides dans la séquence de l'hémagglutinine pour faire perdre au virus hypervirulent de 1918 sa transmissibilité d'un animal (choisi en l'occurrence comme modèle, le renard), à un autre, tout en conservant son effet létal. Ces deux changements entraînent également, et simultanément, une importante réduction dans l'affinité du virus ainsi modifié pour le récepteur prédominant chez l'homme (récepteur de type α -2,6 riche en acide sialique lié au galactose), avec une affinité accrue en revanche, vis-à-vis du récepteur type α -2,6 des oiseaux que manifeste le virus de la grippe aviaire H5N1 (T.M. Tumpey *et al.*, *Science* 315, 655, 2007). Il ressort de ces travaux que la dangerosité du virus de 1918, qui tua près de 50 millions de personnes, est probablement explicable par une exceptionnelle contagiosité liée à l'affinité du virus de l'influenza, de cette époque, pour un récepteur particulier du tissu pulmonaire, contagiosité qui amplifia considérablement son effet létal intrinsèque.

De nombreux gènes de pathogénicité (capsules, toxines, facteurs d'adhérence, d'invasion et de survie cellulaire) ont été clonés, ce qui a rendu possible une analyse précise de leur rôle vis-à-vis des cellules cibles. La génomique a ainsi permis de caractériser des gènes de pathogénicité nouveaux que l'étude « classique » des mutants n'avait pas encore permis de mettre en évidence. Un concept important s'est peu à peu dégagé de ces études (Sansonetti), celui selon lequel on observe un regroupement topographique fréquent des gènes de pathogénicité dans des « îlots » dits, « îlots de pathogénicité », souvent présents sur des plasmides¹, des bactériophages ou sur le chromosome bactérien, ce qui permet et explique le transfert en « bloc » de ces gènes effecteurs de virulence.

● *Les cellules cibles et les mécanismes de pénétration des bactéries pathogènes*

Mais c'est surtout au niveau de la cellule cible elle-même, cellule atteinte et envahie par l'agent pathogène, que des progrès marquants ont été enregistrés, progrès contribuant, pour une large part, au renouveau de la microbiologie. Cette attention réactivée pour les cellules cibles est consécutive aux recherches concernant les récepteurs de fixation sur la membrane des cellules infectées (dont nous venons de fournir un exemple avec les récepteurs glycoprotéiques des virus de l'influenza). Mais elle est liée également aux

1. Plasmides : petit chromosome circulaire de la bactérie qui se reproduit indépendamment du chromosome principal qui peut se transmettre d'une bactérie à une autre et sert souvent de vecteur dans les expériences de génie génétique.

mécanismes de pénétration de certains de ces agents pathogènes (cf. *infra*) et aux innombrables cascades de signalisation telles que celles intervenant, par exemple, dans le déclenchement des réactions immunologiques innées, mettant en jeu les récepteurs Toll.

Les processus au cours desquels les cellules cibles – par exemple les cellules animales d'un tissu infecté – voient leur cytoplasme envahi par des microbes pathogènes sont longtemps demeurés mystérieux. L'étude de certains gènes appartenant à des bactéries pathogènes invasives, en particulier grâce aux travaux menés à l'Institut Pasteur par Ph. Sansonetti et P. Cossart, a permis de reconstituer, avec précision, les principales étapes de pénétration de divers microbes pathogènes mais également les mécanismes intervenant dans leur déplacement à l'intérieur de la cellule infectée ou dans le passage d'une cellule à l'autre.

On a pu distinguer deux catégories dans les mécanismes princeps d'« internalisation » des bactéries pathogènes : l'un d'eux est dénommé mécanisme de sécrétion de type III. Il est mis en œuvre par des bactéries du genre *Salmonella* et *Shigella* ; l'autre mécanisme dit « à fermeture Éclair » est utilisé par des bactéries telles que *Listeria monocytogenes* ou *Yersinia pseudotuberculosis*. Dans le premier cas, des protéines codées par des gènes bactériens contribuent, en s'assemblant à la formation d'un appendice ressemblant à une seringue qui sert à injecter le pathogène dans la cellule hôte, par un processus de translocation, en jouant sur le cycle « polymérisation-dépolymérisation » de l'actine cytoplasmique. *Listeria monocytogenes* (une bactérie qui se développe dans des aliments longtemps conservés au froid, capable de traverser les barrières hémoméningées, intestinales et foeto-placentaires et de survivre en se divisant à l'intérieur des phagocytes) entre dans les cellules qu'elle infeste par un mécanisme plus complexe. Des protéines exprimées à sa surface, les « internalines », interagissent avec le récepteur E-cadherine de la cellule cible. Cette interaction stimule le recrutement de deux autres protéines, les α - et β -caténines. Celles-ci s'associent au cytosquelette d'actine de la cellule cible, le rendant apte à faciliter la pénétration intra-cellulaire de la bactérie ou son passage d'une cellule à l'autre. Bien d'autres gènes, aujourd'hui identifiés, interviennent également.

La connaissance de ces phénomènes d'internalisation non seulement jette une lumière toute nouvelle sur les mécanismes intervenant dans les phénomènes invasifs des agents pathogènes, elle est en passe également de conduire à la production de nouveaux vaccins ou de nouveaux agents de synthèse capables de bloquer, en des étapes précises, la pénétration du pathogène. Mais, en dehors de la mise en œuvre de ces mécanismes de pénétration intracellulaire qui viennent d'être décrits, certaines bactéries, comme *Yersinia*

pseudotuberculosis (agent entéropathogène capable de franchir la barrière épithéliale de l'intestin et d'avoir accès aux ganglions lymphatiques), peuvent également se développer de façon extracellulaire en mettant en œuvre une véritable stratégie « d'antiphagocytose ». Cette stratégie implique la formation des facteurs dénommés « Yop » capables, en agissant sur le cytosquelette, de modifier le complexe de phagocytoses.

D'autres microbes pathogènes invasifs (*Mycobacteries Chlamydia, Salmonella* et *Legionella*) parviennent à se répliquer à l'intérieur des vacuoles de phagocytose sans être véhiculés vers les lysosomes destructeurs et fabriquent des enzymes du type NRAMP (*natural resistance associated macrophage proteins*) qui leur confèrent, pense-t-on, une résistance aux radicaux superoxydes toxiques produits par les macrophages.

Il existe en somme chez certains microbes pathogènes un véritable arsenal de détournement des fonctions cellulaires clés (voir revue par G. Tran van Nhieu et P. Cossart, *Médecine Sciences*, 17, n° 6-7, p. 701, 2001).

- *Gènes de susceptibilité*

La caractérisation d'un assez grand nombre de gènes de susceptibilité, présents dans l'organisme infecté a permis de comprendre les différences dans les sensibilités relatives de certaines ethnies, vis-à-vis d'un même agent causal de pathogénicité. Un des exemples peut être fourni par l'existence du gène humain NRAMP (dont l'homologue murin code pour une protéine intégrale de membrane) et dont l'activité est en relation avec la sensibilité de certaines populations au bacille de la lèpre (Abel L.).

- *Environnement et réservoirs d'agents pathogènes*

La microbiologie moderne, bactérienne, virale ou parasitaire, porte une attention toute particulière à l'influence de l'environnement en tant que facteur de sélection favorisant l'existence de réservoirs d'agents pathogènes ou leur migration géographique. Cette éco-microbiologie concerne aussi bien les graves infections nosocomiales et les toxicologies alimentaires (contamination des produits laitiers par *Listeria monocytogenes*) que les infections provenant des systèmes de conditionnement d'air hôtelier ou industriel (ex. de la maladie du Légionnaire, *legionella*). Elle porte également attention au problème général de la propagation « accidentelle » d'agents pathogènes, hors de leur niche écologique, du fait de l'accroissement considérable du tourisme et des déplacements fréquents en avion...

Le réchauffement climatique et les changements apportés par l'homme à l'environnement sont également, pour les microbiologistes et

les épidémiologistes, des facteurs de préoccupation. L'impact éventuel du changement climatique sur les maladies à vecteurs (liées par exemple aux insectes) est difficile à prévoir. Ce changement pourrait avoir, en effet, une influence notable sur la répartition géographique des zones endémiques ou sur la dissémination d'épidémies (F. Rodhain, in *ECRIN*, 68, 23, 2007). Ainsi a-t-on observé, par exemple, une dissémination géographique importante du virus de la fièvre de la Vallée du Rift, du virus Chikungunia et du virus de la fièvre catarrhale ovine (*Blue tongue*). La fièvre catarrhale a atteint la Corse et l'Espagne en 2000, sans doute à la suite du réchauffement climatique. Quant à l'épidémie de Chikungunia qui s'est propagée en 2005 dans l'île de La Réunion, elle s'est vraisemblablement produite à la suite de traitements insecticides trop intensifs qui ont modifié l'équilibre biologique entre divers moustiques vecteurs. Cela aurait entraîné le remplacement d'*Aedes aegyptii*, vecteur du paludisme, par *Aedes Albopictus* agent de transmission du virus Chikungunia. En ce qui concerne le virus de la vallée du Rift, responsable d'épidémies meurtrières en Égypte, sa présence accrue serait en relation avec la construction du célèbre barrage d'Assouan et des retenues d'eau consécutives. On explique par un semblable concours de circonstances, la recrudescence récente de maladies parasitaires, et notamment de leishmaniose, au voisinage de Dakar : elle aurait été provoquée par les travaux ayant conduit à la création d'un nouveau barrage du fleuve Sénégal (A. Capron, communication personnelle). Une autre étude récente portant également sur la leishmaniose au nord-est de la Colombie a montré que son incidence variait très sensiblement avec les changements de température dus au phénomène « *El Niño* ». Des études prévisionnelles, concernant l'introduction, en France, de nouvelles maladies animales, ou l'accroissement de leur incidence (leishmaniose viscérale, peste équine, fièvre catarrhale ovine, etc.) par suite de changements climatiques, sont d'ailleurs menées par des groupes d'experts, en relation avec l'AFSSA (l'Agence française de sécurité sanitaire des aliments).

Ainsi, une véritable microbiologie environnementale mobilisant, outre les biologistes, les virologues et les médecins, des épidémiologistes, des entomologistes, etc. commence à s'imposer.

Dans ce même cadre s'inscrivent d'ailleurs d'autres modifications du comportement humain, consécutives à des interactions entre l'homme et l'animal en provenance de régions tropicales où sont souvent localisés des réservoirs d'animaux porteurs de virus transmissibles à l'homme. Telle est, sans doute, l'origine du SIDA.

Mais d'autres considérations, et d'autres observations, sont également à l'origine du renouveau microbiologique. Ainsi en est-il de la reconnaissance

du rôle joué par les pathogènes d'origine virale dans l'apparition des cancers² (ex. virus HBV) et apparition des hépatocarcinomes primaires ou de l'action de la bactérie *Helicobacter pylori* dans le déclenchement des ulcères gastriques. Il apparaît, en effet, que des agents pathogènes transmissibles (mais sensibles à des réactions immunitaires ou aux antibiotiques), peuvent être responsables de l'apparition de maladies « non communicables » dont on pensait, jusqu'à présent, qu'elles se démarquaient totalement des maladies infectieuses³.

II.1.1.3. Vaccinologie

● *Aperçus historiques et généralités*

Le concept de vaccination est né en Chine. On injectait aux enfants le contenu des pustules de la variole provenant de malades ayant développé une forme atténuée de cette affection pour les prémunir.

C'est au médecin anglais, Edward Jenner, que l'on doit la première intervention systématique (1796) pour protéger des enfants contre cette maladie qui sévissait gravement en Europe. Il eut l'idée d'administrer à un enfant une forme de variole bénigne pour l'homme, maladie affectant les bovins, la vaccine, en prélevant le liquide d'une pustule vaccinale et parvint à le protéger avec succès contre la forme virulente (le nom de « vaccin » est donc issu de ce procédé puisqu'il évoque le terme de « vacca » qui désigne la vache en latin).

Mais c'est à Louis Pasteur, vers la fin du XIX^e siècle, que l'on doit d'avoir considérablement élargi le principe et étendu la pratique de la vaccination expérimentale, ainsi que son application clinique.

On sait en effet comment, en découvrant l'atténuation des germes, il sut mettre son observation à profit pour développer un premier vaccin contre le choléra des poules, puis à étendre ses expériences au rouget du porc, à la maladie du charbon et, enfin, à la rage, maladie redoutable et fréquente en Europe à cette époque⁴.

2. L'attribution en 2008 du prix Nobel de Physiologie et de Médecine au professeur Zur Hansen pour ses travaux sur le rôle des papillomavirus dans le déclenchement des cancers du col en est une belle illustration

3. Outre le cas, bien établi, des relations de causalité pouvant exister avec une fréquence significative entre infection par HBV et hépatocarcinomes, il a été rapporté que le virus de l'hépatite C, de même qu'*Helicobacter pylori* ou *Campylobacter jejuni* pourraient être impliqués dans l'apparition de lymphomes.

4. Dans la période d'après-guerre, l'Institut Pasteur allait également jouer un rôle majeur dans la mise au point d'un vaccin contre la poliomyélite (1954), puis contre l'hépatite B (1985).

Le principe d'une protection contre la maladie, en ayant recours à l'administration de l'agent pathogène correspondant, sous forme atténuée, sera étendu par la suite à la production de nombreux autres vaccins, tels ceux établis contre la diphtérie, le tétanos, la coqueluche, la tuberculose et la fièvre jaune.

● *Divers types de vaccins*

De très nombreux vaccins, que l'on pourrait qualifier de première génération, c'est-à-dire conçus selon les procédés de Louis Pasteur sont des « vaccins vivants atténués ». C'est le cas par exemple des vaccins destinés à prévenir contre la rougeole, la poliomyélite, la tuberculose, etc. Pour provoquer cette atténuation, on isole le plus souvent des formes « mutantes » du pathogène (bactérie ou virus). Celui-ci conserve éventuellement ses propriétés de répllication chez la personne traitée tout en étant dépourvu de virulence.

On peut également avoir recours à la technique d'invalidation du gène de virulence par recombinaison homologue (*knock out*). Souvent d'ailleurs, on procède à l'élimination de plusieurs gènes pathogènes à la fois ou l'on utilise des mutants multiples pour éviter un éventuel « retour » à la virulence. Pour autant, les impératifs de sécurité, la crainte – en dépit des précautions mises en œuvre – d'observer, même exceptionnellement, la réacquisition d'une virulence par un vaccin vivant, ont conduit à privilégier ces dernières années, l'usage de vaccins dits « moléculaires ». De tels vaccins sont constitués par des « antigènes purifiés » dont on vérifie le pouvoir immunogène et protecteur. Souvent pour une garantie absolue de pureté, on fait appel aux procédés du génie génétique. À titre d'illustration, on peut citer l'utilisation de l'antigène Hbs cloné dans des cellules de hamster chinois (P. Tiollais) ou dans la levure (procédé Merck) en tant qu'antigène vaccinal contre l'hépatite virale de type B qui sévit dans divers pays du Sud et peut dégénérer en hépatocarcinome. Un autre exemple est fourni par la glycoprotéine purifiée par clonage pour le vaccin antirabique.

Il n'est cependant pas toujours aisé de caractériser des antigènes doués de propriétés vaccinales à partir des multiples molécules intervenant dans la constitution des micro-organismes. On recherche souvent des molécules présentes en leur surface et, de ce fait, plus facilement accessibles aux anticorps. Les connaissances qu'a permis de fournir l'identification des séquences génomiques, peuvent s'avérer ici d'une très grande utilité pour le recensement des antigènes potentiels surtout si cette identification conduit à préciser la nature des gènes de virulence.

Mais, il est également important de déterminer les « domaines » des protéines antigéniques qui sont reconnus par les lymphocytes T

(cytotoxiques, ou NK), domaines appelés « épitopes ». Ces épitopes sont des « peptides de petite taille » qui s'associent aux molécules du complexe majeur d'histocompatibilité pour être « présentés » aux récepteurs des lymphocytes. Des procédés permettant de définir et d'optimiser des séquences d'acides aminés « repérées » comme épitopes potentiels pour un groupe HLA donné existent et sont mis en œuvre par les « Genopoles » en liaison avec l'Industrie.

On s'efforce fréquemment d'amplifier la réponse immunitaire par des molécules appropriées qui agissent en activant les cellules dendritiques⁵ (au niveau des récepteurs de types Toll), ce qui entraîne la production de divers médiateurs (cytokines, chimiokines...) jouant un rôle dans la réponse immunitaire spécifique (Jules Hoffman).

D'autres voies pour assurer une vaccination, telle que la voie orale, sont utilisées. Ce type de vaccination peut faire intervenir, outre les mécanismes de réponse immunitaire classique, une immunité mucoale (ex. IgA produits par l'intestin, la salive, le vagin...). On utilise également la voie intranasale contre la grippe.

L'une des orientations actuelles de la vaccinologie concerne la vaccination thérapeutique qui permet de stimuler le système immunitaire de sujets (déjà) malades. Elle permet de contrôler des infections virales chroniques, à papillomavirus humains oncogènes (virus de type herpès, HPV16 et 181) associés aux cancers du col ou aux virus HBV ou HCV.

Il convient de mentionner ici, un autre type de vaccins, potentiellement utilisable en clinique, mais dont les effets pour l'heure sont essentiellement étudiés au plan expérimental : il s'agit des vaccins à base d'ADN. Ici on n'utilise plus des protéines virales pour des affections virales chroniques mais l'ADN codant ces protéines. Les gènes correspondants sont en général insérés dans un plasmide d'*E. coli*, associés à un promoteur eucaryote (ce qui permet une expression en contexte eucaryotique, *in vivo* comme *in vitro*). Il a été observé que l'immunisation par la voie ADN contre différents virus (herpès, hépatite B et C, cytomégalovirus, rage, grippe) déclenchait la production d'anticorps neutralisants et une réponse cellulaire cytotoxique. Certains essais cliniques sont en cours, mais chez l'homme les résultats ne sont pas encore probants.

5. Les cellules dendritiques, présentes sous la peau ou dans les muscles et qui sont les éléments de réponse de l'immunité « innée » (par opposition à l'immunité adaptative) permettent d'amorcer les réponses des cellules T, par leur capacité à « présenter » les peptides antigéniques (en association avec le complexe CMH et des molécules co-stimulatrices), aux récepteurs cellulaires des lymphocytes T, conduisant à l'activation de ces derniers et au déclenchement des réponses effectrices.

On peut voir, à travers cet exposé très schématique que, soit par l'entremise de formes atténuées, soit par le recours aux techniques moléculaires (antigènes purifiés), on dispose aujourd'hui de nombreux vaccins capables de prémunir contre de nombreuses affections virales : rougeole, rubéole, oreillons, hépatites, rotavirus (responsables de graves diarrhées infantiles), papillomavirus, etc. En outre, il est possible aujourd'hui de vacciner en une seule fois contre six maladies distinctes...

● *Les défis posés par le SIDA, le paludisme et la tuberculose*

Toutefois, en dépit de nombreuses recherches (qu'il est impossible de décrire ici), on ne dispose pas encore de vaccins contre deux des agents pathogènes les plus redoutables que sont le SIDA et le paludisme. Bien que le virus du SIDA ait été découvert en 1983 par Luc Montagnier et Françoise Barré-Sinoussi⁶ à l'Institut Pasteur, sa mutabilité très fréquente rend, en effet, la tâche difficile. Selon certains microbiologistes, il semblerait que pour disposer d'un vaccin efficace, il faille pouvoir induire conjointement une réponse « cellulaire » (lymphocytes T) et une réponse de type humoral produisant des anticorps neutralisants. Rappelons ici que, selon les chiffres publiés par l'OMS et ONU/SIDA en 2006, on estime que 39,5 millions de personnes dans le monde vivent avec le VIH et que près de trois millions sont mortes, dans l'année, des suites de la maladie. En ce qui concerne le paludisme, de nombreux chercheurs dans le monde sont à l'affût de « candidats-vaccins », c'est-à-dire de molécules ou complexes moléculaires isolés du *Plasmodium falciparum* assurant, après administration, une réponse immunitaire durable. Des travaux sont menés dans ce sens à Bamako (Mali) au sein du *Malaria Research Training Center* (MRIC), ainsi qu'en France, à l'Institut Pasteur et dans de nombreuses régions du monde. En Europe, l'« *European malaria vaccine initiative* » finance divers projets (dont certains en relation avec l'Institut Pasteur) visant à identifier des candidats vaccins contre le paludisme : il s'agit notamment d'essais réalisés avec une molécule présente à la surface du parasite pendant la phase de son cycle de développement érythrocytaire, la molécule MSP3, et d'une autre, LSA, présente lors du stade hépatocytaire du parasite. Quant à la tuberculose, on sait aujourd'hui que le BCG a perdu de son efficacité vis-à-vis d'une grande partie de la population affectée par ce fléau.

D'une manière générale, on peut dire que le programme de vaccination de l'OMS lancé en 1974, a incontestablement permis de sauver un grand nombre de vies humaines. Néanmoins, selon cette organisation, on estimait au début du XXI^e siècle à 37 millions le nombre d'enfants dans le monde qui

6. Luc Montagnier et Françoise Barré-Sinoussi qui viennent de se voir décerner tout récemment le prix Nobel de Physiologie et de Médecine.

n'étaient pas systématiquement vaccinés. Particulièrement préoccupante est la menace que fait peser le SIDA au cours de la transmission mère-enfant mais aussi les maladies « négligées ». Il s'agit de maladies dont on ne peut assurer ni la prévention – car on ne dispose pas de vaccins – ni des traitements efficaces. La recherche et le développement les concernant demeurent insuffisants. Elles comprennent de nombreuses maladies respiratoires, des maladies diarrhéiques, des parasitoses, etc. Des industriels ont toutefois entrepris récemment d'agir contre ces maladies négligées, en dépit du faible « retour sur investissement ». La Fondation de Bill et Melinda Gates (avec un capital de 25 milliards d'euros) qui se consacre à la santé des enfants dans les pays en développement et en particulier à la recherche de nouveaux vaccins, a inscrit dans son programme prioritaire la mise au point de certains vaccins anti-diarrhéiques.

Il est clair, toutefois, que les politiques de santé des pays en développement ne peuvent pas reposer sur les seules mesures vaccinales. Elles doivent s'appuyer sur un ensemble de mesures, d'hygiène, de prévention et d'éducation. Le rôle des femmes est ici prépondérant pour propager ces mesures au niveau de l'unité familiale comme le préconise fortement le *World Health Education Program*.

II.1.1.4. Les zoonoses

Tableau 2.

Pour les commentaires détaillés, se reporter au chapitre consacré aux maladies émergentes.

Quelques exemples de maladies virales émergentes ⁷		
Type de maladie virale	Conséquences	Transmission etc.
VIH/SIDA	Environ 40 millions de personnes vivant avec une infection par le VIH dans le monde (2006)	2,9 millions de personnes décédées (en 2006)
SRAS	Virus du syndrome respiratoire aigü sévère – début épidémie en Chine (2002)	800 décès (2003-2004)
EBOLA	Identifié pour la 1 ^{re} fois en République démocratique du Congo (1976)	Extrêmement virulent taux de mortalité (85%) mais effets circonscrits

7. D'origine animale le plus souvent.

CHIKUNGUNYA	Réémergence épidémique à la Réunion et à Mayotte (2005-2006)	Très contagieux (38 % des habitants de la Réunion. Épidémie circonscrite (2007-2008))
GRIPPE DE HONG-KONG	Épidémie de 1968	2 millions de décès
GRIPPE AVIAIRE	Virus H ₅ N ₁ – Transmission d'origine aviaire. Pas de contagiosité d'homme à homme	279 cas humains recensés (2007) 169 décès
-MARBURG	Origine : singe de l'Ouganda	Très virulent géographiquement circonscrit
-WEST-NILE	Origine aviaire. Grande répartition géographique	12000 personnes contaminées au USA (2003-2004)

Les anthroponoses (ou zoonoses) sont des maladies infectieuses ou parasitaires, naturellement transmissibles des animaux vertébrés à l'homme (et *vice versa*). Plus de 200 d'entre elles ont été répertoriées à ce jour (arboviroses, brucelloses, échinococcoses, rage, tuberculose, etc.). L'homme leur paie un lourd tribut, notamment dans les pays en développement (J. Blancou et P.C. Lefèvre, 2007).

Comme l'ont souligné, dans une déclaration commune, l'Académie nationale de médecine et l'Académie vétérinaire de France (mars 2006) : « Il est plus que jamais évident que, pour maîtriser les zoonoses, c'est au réservoir animal qu'il faut s'attaquer en priorité. Cette lutte n'aura de chances de succès que si la coopération se renforce entre médecins et vétérinaires d'une part, pays développés et pays en développement d'autre part. » Les alarmes que suscitent ces zoonoses lesquelles sont très souvent de type viral, véritables maladies émergentes de ces dernières décennies, demeurent très vives et amplement justifiées.

- *SIDA (les virus HIV)*

Songez au virus du SIDA dont le réservoir est constitué par certains grands singes des régions tropicales africaines. Des recherches menées au Gabon en 1989 par l'IRD (Institut de recherche pour le développement) avaient établi qu'un chimpanzé domestique était porteur d'un virus proche du HIV-1, ce qui avait conduit à penser que le chimpanzé pouvait être le réservoir naturel du virus. Pourtant, compte tenu du caractère isolé de l'observation, le doute subsistait. Les recherches ont repris en essayant de déceler la nature des virus présents dans les déjections de singes et de gorilles. Elles ont pu montrer,

chez les chimpanzés sauvages, la présence en quantités importantes du virus HIV-1. La sous-espèce *Pan Troglodytes troglodytes* (bassin du Congo) est infestée par le virus HIV-1 appartenant aux groupes M. et N, alors que le groupe O a été découvert chez le gorille (IRD, *Rapport d'activité 2006*, p. 25). On pense que la contamination de l'homme résulterait d'accidents de chasse ou de consommation de viande de singe qui se serait produite dans les années 40. Les rétrovirus simiens sont très répandus en Afrique centrale. Les contacts hommes/singes sont amplifiés par la déforestation massive. La pandémie de SIDA est une véritable catastrophe sanitaire mondiale. Rappelons les chiffres : près de 40 millions de personnes vivant avec le VIH en 2006 (OMS) et 2,9 millions de décès cette même année, l'Afrique subsaharienne comptant les taux de prévalence les plus élevés (pouvant atteindre jusqu'à 34 %). La mobilisation contre cette crise sanitaire a été plus intense au niveau international que pour toute autre pathologie « la pandémie de SIDA a concentré en vingt ans les bouleversements sociaux que d'autres épidémies n'ont pas amorcés » (A. Desclaux, *Journal du CNRS*, 208, p. 23, 2007). Si les di- ou trithérapies ont très sensiblement allongé l'espérance de vie, lorsque les populations y avaient accès, en revanche on est encore à la recherche d'un vaccin efficace (cf. chapitre II.1.1.3 consacré à la vaccinologie).

● *Le SRAS*

Le plus souvent les pathogènes « émergents » (virus ou bactéries) dont certains doivent ce caractère d'émergence au fait d'avoir subi des mutations récentes, apparaissent dans la population à la suite de contacts avec les animaux servant d'hôtes. C'est pourquoi les perturbations de l'environnement (telles que la déforestation, les mises en culture de terres autrefois sauvages, l'éradication des prédateurs, ainsi que le commerce des animaux sauvages) peuvent devenir des facteurs très importants dans le déclenchement soudain des épidémies. Des mutations supplémentaires aidant, les zoonoses peuvent se communiquer ensuite d'homme à homme.

C'est ainsi qu'est apparu le virus du syndrome respiratoire sévère (SRAS) fin 2002. L'épidémie a démarré dans la région de Guandong en Chine, gagné l'Asie puis les autres continents (tourisme, déplacements des équipes médicales)⁸. Le réservoir animal paraît avoir été un petit mammifère consommé pour sa viande, la civette musquée. L'épidémie de SRAS a causé environ 800 décès. L'agent responsable a été identifié en 2003 par les équipes de l'Institut Pasteur de Paris à la demande de l'OMS et par le docteur A. Osterhaus, au centre de virologie ERASME à Rotterdam. Il s'agit

8. C'est un médecin, porteur asymptomatique du virus qui contamina 12 personnes dans un hôtel à Hong Kong et celles-ci, en se rendant au Canada, en Irlande, au Vietnam et à Singapour, propagèrent le virus à travers la planète...

d'un coronavirus d'un type nouveau. En définitive, l'épidémie paraît avoir été contrôlée par la mise en quarantaine des patients.

- *Ebola*

Un autre exemple de maladie émergente à caractère viral en provenance d'un réservoir animal est fourni par la fièvre hémorragique connue sous le nom d'Ebola. Le virus a été identifié pour la première fois en République démocratique du Congo (1976) où il s'est révélé être un agent pathogène extrêmement virulent mais n'a eu que des effets circonscrits. Il est réapparu, par la suite, en Afrique du Sud, au Gabon et au Congo-Brazzaville. Son biotope d'origine semble être la chauve-souris. Le virus qui cause un taux de mortalité pouvant atteindre 85 % est transmis à l'homme par contact avec des primates morts ou malades. La gestion des crises est parfois rendue difficile par la « terreur » (justifiée) qu'inspire la maladie aux populations locales.

- *Chikungunya*

Parfois, la transmission inter-humaine de la zoonose n'est pas systématique c'est-à-dire qu'elle ne dépend pas toujours d'une transmission directe d'un malade à une personne saine. Elle peut dépendre d'un vecteur. C'est ce qui a été récemment observé lors de l'épidémie due au virus responsable du Chikungunya dans l'île de La Réunion et à Mayotte. Il semble que la souche du virus d'origine africaine se soit adaptée par mutations à un vecteur, le moustique *Aedes albopictus*. La maladie qui était considérée avant l'épidémie de 2005-2006 comme plutôt bénigne, a été assortie de symptômes graves pouvant être liés aux mutations qui avaient simultanément modifié l'habitat du virus. On a estimé le taux de contamination à environ 20 000 personnes par semaine 38 % de la population de l'île étant touchée. L'épidémie s'est tarie, fin 2006, sans doute par suite d'un usage systématique d'agents insecticides et du fait de l'immunité acquise par la contamination. Certains craignent, toutefois, une résurgence de la crise pouvant résulter de la résistance du moustique vecteur aux insecticides.

- *Grippe aviaire*

Autre alarme, celle de la grippe aviaire due au virus H5N1 (cf. *supra*). Cette maladie, comme son nom l'indique, affecte surtout les oiseaux mais peut se transmettre à l'homme. En mai 2007, on avait recensé 279 cas humains répartis dans 11 pays et 169 décès. Pour l'heure, il semble que la transmission de l'oiseau à l'homme, quoique réelle, demeure modérée et que la contamination inter-humaine n'ait pas été signalée. Les craintes n'en demeurent pas moins vives et les mesures de confinement des oiseaux, voire l'abattage préventif, sont justifiées par la préoccupation selon laquelle des mutations pourraient modifier la transmissibilité du virus, créant une pandémie catastrophique. Ainsi, en 1918 (cf. *supra*) la grippe espagnole a causé près de 40 millions de morts ! En

1957, la grippe asiatique a fait 4 millions de victimes et en 1968, celle de Hong Kong 2 millions. Il convient de remarquer que le virus H5N1 se multiplie en général chez les oiseaux, donc chez des animaux dont la température est voisine de 40 °C, alors que la température des voies respiratoires de l'homme est proche de 33 °C. Les virus infectant l'homme sont, en toute vraisemblance, des virus ayant donc subi une mutation dans leur système de réplication. Le virus gagne, en général, les voies respiratoires profondes, les voies supérieures ne renfermant pas les récepteurs adéquats. Cela explique que, ne pouvant être expectoré par la toux, sa transmission intra-humaine est difficile. Si, malheureusement H5N1 pouvait après mutation coloniser les voies respiratoires supérieures, il s'ensuivrait une véritable pandémie !

- *Marburg, West-Nile*

D'autres maladies virales émergentes sont également à redouter même si elles sont moins connues en Europe. Il en est ainsi des maladies causées par le virus West Nile « la variole du singe » (*monkey pox*), le virus de Marburg, ou le virus de la fièvre hémorragique avec syndrome rénal.

Le virus West Nile est sans doute, de cette série, le plus préoccupant. Il fut découvert en Ouganda à la fin des années 30, mais s'est répandu sur les divers continents. Il est transmissible des oiseaux infectés à l'homme par l'intermédiaire des moustiques. Dans les années 2003 et 2004, une épidémie a frappé les États-Unis (14 000 personnes contaminées, 600 décès). On a recensé de rares cas en Europe.

Le virus de Marburg provient également des singes de l'Ouganda, eux-mêmes infectés à partir d'un réservoir animal inconnu à ce jour. Il est transmissible à l'homme à partir des déjections animales et entraîne la mort dans la majorité des cas.

- *Recherches récentes*

Des recherches sur les zoonoses sont menées activement dans le monde. Elles concernent en particulier l'identification des agents responsables, le plus souvent de nature virale, et l'étude de leurs caractéristiques notamment génomiques. Ainsi des progrès importants ont été réalisés dans la génomique des virus les plus dangereux tels que Ebola et Marburg (H.D. Klenk), dans la connaissance des mécanismes de réplication et du rôle des cellules spécialisées (macrophages, monocytes, cellules endothéliales) dans leur pathogenèse (fièvres hémorragiques).

Le centre de médecine Érasme, à Rotterdam, sous l'impulsion du Dr A. Osterhaus a été à l'avant-garde dans l'identification de nombreux virus

zoonotiques : ex. le nouveau virus de l'influenza découvert à Hong Kong (1997), le virus humain de la grippe aviaire H5N1 (1997), le métapneumovirus humain (2001), le coronavirus du SRAS (2003), le virus humain de la grippe aviaire type H7N7 (2003), un nouveau coronavirus humain HCOV-NL (2004) ainsi que plusieurs types de virus responsables de zoonoses chez divers animaux (oiseaux, otaries, singes, etc.). L'Institut Pasteur a joué également un rôle très important dans la phase de caractérisation des virus responsables de zoonoses, dans l'élaboration de nouveaux vaccins, dans l'étude des mécanismes de défense immunitaire en fonction du terrain génétique.

En ce qui concerne le syndrome respiratoire aigu sévère (SRAS), certaines études se sont focalisées sur la caractérisation des facteurs de l'hôte qui influencent la pathogénicité du virus SARS-COV, dans diverses espèces animales. La localisation du récepteur de ce virus, ACE₂ et de l'antigène viral, chez le furet, le chat et le macaque ont révélé des différences remarquables de sa distribution. Le « profilage transcriptionnel » (puces à ADN) des tissus pulmonaires du macaque infecté a mis en lumière l'existence d'une réponse de type « innée », caractérisée par l'activation de gènes codant pour des interférons, réponse accompagnée par l'induction de niveaux élevés des interleukines IL-6, IL-8 et IP-10 ; ce qui est en accord avec le profond dysfonctionnement respiratoire aigu tel qu'on l'observe chez l'homme après infection.

Les études immuno-histochimiques ont révélé une inhibition prononcée de la translocation et de la phosphorylation de STAT-1 dans les cellules infectées par SARS-COV, ce qui permet d'expliquer comment le virus parvient à échapper à une réponse immunologique de type précoce.

D'autres aspects de la pathogenèse accompagnant les infections par des virus responsables de zoonoses, qui ont beaucoup bénéficié des avancées récentes de la biologie structurale, concernent les propriétés et le rôle des hémagglutinines (HA) du virus de l'influenza. Il s'agit, en effet, d'un antigène clé de ce type de virus intervenant de façon prépondérante dans l'attachement de l'agent pathogène, au récepteur glycoprotéique de la cellule infectée ainsi que dans le phénomène de variation antigénique (permettant au virus de contourner les défenses de l'hôte) et dans la fusion membranaire.

Des études extrêmement approfondies dues, pour une large part, aux équipes de John J. Skehel (*National Institute for Medical Research, Royaume-Uni*) et de Don Wiley (*Harvard Medical School*), études initiées en 1981, par la cristallisation de l'hémagglutinine ont pu être conduites en effet à l'échelle atomique. Ainsi ont été révélées des subtilités inattendues dans la spécificité des différents modes d'attachement et de reconnaissance mis en jeu par les

multiples formes du virus Influenza, ainsi que ses mécanismes de fusion avec la membrane cellulaire de l'hôte infecté.

En effet, en ce qui concerne la fusion de l'hémagglutinine avec la membrane de la cellule hôte, on a pu montrer qu'elle nécessitait un clivage préalable de cette glycoprotéine virale par une protéase cellulaire, de sorte que ce processus est nécessaire à l'infectivité du virus. Des virus Influenza « recombinants » présentant dans leur hémagglutinine un site de clivage « modifié » sont actuellement l'objet d'attention en tant que vaccins potentiels (Klenck).

II.1.1.5. Diagnostics et thérapies des maladies virales – Un aperçu

Le foisonnement des maladies virales requiert, de façon croissante, des techniques de diagnostic rapide. Celles-ci peuvent être de natures variées et peuvent atteindre un haut degré de sophistication.

Les méthodes classiques qui continuent à être largement utilisées sont indirectes, en ce sens qu'elles font intervenir la détection des anticorps spécifiques du virus au sein de prélèvements issus du patient. Par exemple, tous les laboratoires de biologie clinique chargés de tester les dons de sang mettent en évidence, grâce à des batteries de tests, les anticorps dirigés contre deux virus particulièrement graves, le VIH (virus de l'immunodéficience humaine) et le VHC (virus de l'hépatite C).

Dans certains laboratoires, s'agissant de ces deux virus dont on cherche à déceler la présence précoce, on utilise un procédé par quantification directe de l'ARN viral, ou d'antigènes viraux spécifiques repérés par des batteries d'anticorps monoclonaux sur support solide.

Parmi les autres méthodes classiques, par exemple lorsqu'il s'agit de diagnostiquer une infection virale en milieu hospitalier, on procède à la recherche, par culture de cellules, examen en microscopie électronique et tests immuno-enzymatiques. L'inconvénient de ces méthodes est la relative lenteur dans la fourniture des résultats et le fait que la culture des virus à des fins diagnostiques est une technique assez lourde.

Récemment, la biologie moléculaire a permis de développer des tests diagnostics rapides, souvent quantitatifs et automatisables. Ces tests font appel, par exemple, à l'hybridation moléculaire de sondes marquées avec le matériel génétique du virus ou à une amplification de gènes viraux par la technique PCR (*Polymerase chain-reaction*). Le plus souvent, on a recours à des

sondes de détection d'ARN ou d'ADN viral porteurs d'un marqueur fluorescent, après avoir amplifié le matériel viral à tester ; cette opération est réalisée en utilisant des puces à ADN (*biochips*). Comme nous l'avons déjà décrit, ces systèmes consistent en des supports solides recouverts de plusieurs centaines à plusieurs milliers de sondes d'ADN de séquences différentes et parfaitement connues. L'intérêt de cette technique est qu'elle permet de déceler simultanément plusieurs virus pathogènes dans un même prélèvement (*multiplexage*). Grâce au choix sélectif des sondes de séquences connues, correspondant à des génomes de souches distinctes d'une même espèce virale, on peut également préciser la nature génétique de la souche infectieuse (génotypage).

Enfin, à côté des techniques d'amplification génique classique (type PCR) (où la détection du produit amplifié n'a lieu qu'au cours de l'étape suivant l'application sur support renfermant les sondes spécifiques), il existe aujourd'hui des techniques dites d'amplification en temps réel, c'est-à-dire que la détection se fait simultanément à l'amplification, la mesure de la fluorescence étant effectuée à chaque cycle catalysé par la polymérase. Dans ces techniques récentes, la durée de l'amplification est également réduite (emploi de capillaires et flux d'air). Si ces perfectionnements techniques apportés au diagnostic et au typage moléculaire direct des agents viraux commencent à faire l'objet de développement par diverses firmes industrielles, la recherche d'anticorps, c'est-à-dire la détection indirecte des virus, conserve toutefois de sérieux avantages, du fait de sa robustesse et de son faible coût !

● *Thérapies antivirales*

Lutter contre les virus ne se limite pas au diagnostic des maladies qu'ils provoquent. Malheureusement les antibiotiques sont inefficaces ; aussi a-t-on recours, le plus souvent, à des agents chimiques de synthèse et, dans de rares cas, à des anticorps monoclonaux, voire à l'immunothérapie passive.

Sans vouloir passer en revue les multiples exemples de production d'agents antiviraux, nous nous bornerons à évoquer ici les stratégies qui semblent inspirer aujourd'hui leur mise au point, stratégies qui impliquent une connaissance approfondie des protéines ou des enzymes spécifiques des virus à combattre.

Sur le versant chimique, il faut rappeler que la chimie combinatoire représente souvent le point de départ de la recherche. Il s'agit d'une technique qui s'emploie à établir de très grandes familles de composés chimiques (chimiothèques), soit au hasard, soit de façon rationnelle, en « greffant », en quelque sorte, une multitude de « groupes actifs » sur des squelettes chimiques définis, de manière à obtenir des milliers ou dizaines de milliers de

variants chimiques ; après quoi, ces collections de molécules sont « criblées » (*screening*) sur des cibles d'intérêt, le plus souvent des protéines de l'agent pathogène ou des cellules de micro-organismes. Mais cette approche, longue et coûteuse, ne peut être mise en œuvre que par de grandes firmes pharmaceutiques disposant de gros budgets et d'un important personnel de recherche. Le criblage n'est d'ailleurs pas toujours à l'origine de molécules actives utilisées à très large échelle (ex. : découverte de l'AZT, du Viagra, etc.) !

Pour « rationaliser » l'approche « chimie-combinatoire-criblage sur cible spécifique », on fait appel à la simulation informatique ou à l'analyse de données, afin de « dessiner » la molécule active (*rational drug design*). Par exemple, on s'emploiera à dessiner une molécule médicamenteuse candidate par similitude avec la structure chimique du ligand naturel d'un récepteur afin de bloquer le récepteur en question (analogue chimique de synthèse).

Une variante particulièrement efficace de « modélisation moléculaire », appelée « *de novo drug design* », fait appel à la délimitation dans l'espace des groupes d'atomes appartenant à la molécule candidate, (par exemple un inhibiteur d'enzymes), groupes appelés « pharmacophores ». Plusieurs de ces groupements forment un motif tridimensionnel, capable d'agir, par complémentarité, avec des caractéristiques structurelles analogues du « site actif » de l'enzyme. Bien entendu, les distances relatives des groupements pharmacophores de la molécule candidate doivent être calculées avec une extrême précision. Cette technique de conception informatique des agents chimiques actifs a rencontré de grands succès. Par exemple le Cozaar, un régulateur de tension artérielle, agissant sur le couple rénine-angiotensine a été conçu de cette manière. Mais, pour ce qui nous concerne plus directement ici, l'inhibiteur de la protéase du virus VIH-1, l'un des composés majeurs de la trithérapie du SIDA, aujourd'hui mise en œuvre à grande échelle l'a été également.

On conçoit que ces nouvelles approches à l'identification de molécules douées d'activité antivirale impliquent souvent une connaissance moléculaire précise des enzymes virales. Outre l'exemple cité ci-dessus de la protéase du VIH, on peut également mentionner les recherches menées (J. Gutenberg) sur les enzymes jouant un rôle dans la réplication du virus de l'hépatite C (NS5B-ARN polymérase, NS3 protéase, NS3 hélicase). Une autre stratégie de lutte contre les virus réside dans l'utilisation des « ARN antisens ». Généralement, on met en œuvre des oligonucléotides (ODN) antisens, c'est-à-dire capables de former des hybrides avec une séquence complémentaire dans l'ARN du virus. Il en résulte, le plus souvent, une inhibition de la traduction en protéines, (s'il s'agit d'un ARN messenger provenant d'un virus à ADN), d'un blocage de l'épissage, ou de la réplication, (s'il s'agit d'un virus à ARN), etc. Cette stratégie

est utilisée pour entraver l'action de diverses familles de virus (rétrovirus, herpès, papillomavirus, etc.). Diverses recherches ont été menées avec des oligonucléotides antisens, recherches visant à inhiber la synthèse de protéines majeures, dans le développement du VIH (Greg, Rev, Tat...). Plusieurs oligo-anti VIH sont en essais cliniques.

De nombreuses études expérimentales ont également été conduites selon la même stratégie dans le cas des hépadnavirus dont le prototype est le HBV ; elles ont permis de bloquer *in vitro* certaines étapes clés de la traduction et de la réplication ainsi que de l'encapsidation de ces virus. *In vivo*, certains oligo-antisens sont capables d'empêcher très activement la réplication du virus de l'hépatite B aviaire au niveau des hépatocytes.

Des résultats très probants ont enfin été obtenus en clinique en utilisant des antisens pour inhiber les cytomégalovirus (CMV) causes de rétinites chez les patients atteints du SIDA.

II.1.1.6. Les maladies à prions

La découverte des prions et des maladies qu'ils entraînent a représenté une véritable révolution. Celle-ci s'est manifestée aux plans scientifique et médical, mais également en matière de sécurité alimentaire, ainsi que par ses conséquences socio-économiques et éthiques. Elle a entraîné de nouveaux règlements sanitaires, nationaux et internationaux⁹.

• La protéine « prion » PrP^{sc}

On sait aujourd'hui que les maladies à prions sont causées, non par un virus ou une bactérie, mais par une protéine ayant adopté une conformation tridimensionnelle anormale appelée PrP^{sc}. Cette protéine existe à l'état naturel (PrP) dans le cerveau et intervient sans doute dans le processus du sommeil. La protéine PrP peut subir un changement en PrP^{sc} et l'interaction de la forme anormale et de la forme naturelle induit, chez cette dernière, un changement de conformation, de sorte qu'elle devient capable à son tour de transférer l'anomalie à d'autres protéines PrP et ainsi de suite... L'accumulation, sans doute très lente, de protéines PrP^{sc} dans le cerveau entraîne des troubles neurologiques graves. La structure tridimensionnelle de la protéine PrP et des diverses séries de protéines-prions capables de causer des effets pathologiques a été établie par un chercheur suisse, Kurt Wütrich (prix Nobel 2002) mais c'est le biologiste américain,

9. Consulter l'ouvrage *Comment les vaches sont devenues folles ?*, Maxime Schwartz, éd. O. Jacob, 2001.

Stanley Prusiner (prix Nobel 1997) qui a le premier purifié l'agent infectieux d'une des zoonoses animales connues de longue date, la « tremblante du mouton ». Il a, en effet, pu démontrer que cette zoonose était causée par une protéine thermostable, non associée à des acides nucléiques, protéine qu'il a baptisée « prion » (pour protéine infectieuse) et dont il a décrit le mode d'action.

Qu'une protéine soit susceptible de transmettre directement une « information » à une autre, sans faire intervenir un acide nucléique (considéré jusqu'alors comme le seul support chimique de l'information génétique) et qu'elle puisse en tant qu'agent infectieux se multiplier, était contraire à tous les dogmes de la biologie moléculaire. Pourtant dès 1966, Tikvah Alper, un radiobiologiste, avait observé que l'agent responsable de la « tremblante » résiste à des doses considérables de rayonnement UV, capables d'inactiver même les plus petits virus connus.

En 1967, peu après les publications d'Alper et Latarjet, John Griffith, développe dans le journal *Nature*, une hypothèse selon laquelle une protéine (seule) peut-être à la fois capable de se reproduire et être infectieuse. Ces travaux remettent donc en cause, pour la première fois, la nature virale de l'agent pathogène. Certains auteurs cependant, tout en admettant le rôle clé de la protéine PrP-PsC, mettent en doute l'idée qu'une protéine puisse, par elle-même, constituer un agent infectieux (c'est-à-dire qu'elle soit capable de se perpétuer dans les tissus et éventuellement de se transmettre). L'existence de « virus minuscules » accompagnant l'agent protéique ou de « cofacteurs » discrets a été avancée. Ainsi, Prusiner lui-même, a proposé qu'un cofacteur, la protéine X, jouerait un rôle dans la réaction « en chaîne » qui aboutit à la « dénaturation » de l'ensemble des protéines PrP normales.

Quoiqu'il en soit, le fait que la pathogénicité des prions relève d'un processus de « recrutement transconformationnel » (ou, si l'on préfère, d'une conversion de forme), est clairement établi. En effet, l'injection directe de la forme infectieuse PrPsC à des souris « dépourvues » de la protéine-prion normale, PrP – par suite de l'invalidation du gène PRNP normal (expérience de « knock-out ») – n'entraîne pas la maladie ! Celle-ci est donc bien liée à la formation du couple : protéine anormale-protéine saine. Ce genre d'interaction en cascade, initiée par contagion de forme d'une protéine à une autre, n'existe pas que chez les mammifères. On peut l'observer chez la levure, dans certaines conditions. Elle met alors en jeu un agent infectieux, PSP+, qui est dérivé d'une protéine normale sup. 35 avec laquelle il s'associe.

La protéine-prion normale est une glycoprotéine. Elle comprend environ 250 amino-acides et est présente chez tous les mammifères¹⁰. Bien que s'exprimant surtout dans le cerveau, on la trouve également présente dans le système immunitaire (cellules dendritiques) mais aussi dans le tube digestif (la forme PrPsc est d'ailleurs décelable dans divers organes lymphoïdes : amygdales, rate, plaques de Peyer).

En ce qui concerne le rôle de la protéine PrP normale, on en est réduit à des hypothèses : effet protecteur vis-à-vis de l'apoptose précoce, intervention dans l'élongation des axones des cellules nerveuses, transport intracellulaire du cuivre, agent de lutte contre le stress oxydatif. D'autres auteurs (Baumann *et al.*, 2006) postulent un effet protecteur de la myéline. Le prion pathologique qui est cause de maladies neurodégénératives, peut se retrouver en premier lieu dans le système immunitaire et il semble qu'il s'attache notamment, comme déjà signalé, aux cellules folliculaires dendritiques lesquelles sont présentes dans les ganglions lymphatiques. Selon Adriano Aguzzi de l'université de Zurich, il gagnerait ensuite les nerfs périphériques avant d'atteindre le cerveau. On a, en effet, pu montrer que le PrPsc pouvait être capté par les terminaisons présynaptiques des neurones (J.G. Fournier, 2001). Pour d'autres auteurs, le système sanguin constituerait une autre voie d'accès au cerveau. Certains font intervenir le plexus mésentérique du tissu intestinal.

Au niveau du tissu cérébral, il est généralement admis que les effets neuro-dégénératifs sont précédés par une atteinte des cellules de la microglie lesquelles libéreraient des substances neurotoxiques. Il a été possible d'obtenir des souris transgéniques dont le système microglial est, en quelque sorte, paralysé et qui sont alors réfractaires à diverses maladies neurodégénératives de type encéphalomyélite (F.L. Heppner *et al.*, 2005).

● *Maladies à prions*

Le PrPsc est responsable de toutes les encéphalopathies spongiformes subaiguës transmissibles (ESST) humaines et animales : Maladie de Creutzfeld-Jakob (MCJ), maladie de Kuru, tremblante du mouton, et encéphalopathies spongiformes bovines (ESB). Ces maladies à prion sont transmissibles de façon naturelle ou expérimentale mais non contagieuse au sens habituel (par exemple par contact d'une personne malade et d'une personne saine).

10. La protéine à l'état naturel possède une longue extrémité mobile rattachée au domaine sphérique (globulaire) de la molécule, comprenant trois segments enroulés en α -hélices et un élément enroulé en feuillet β . Le squelette de la protéine modifiée (infectieuse) serait dépourvu d'hélices (cf. Lledo, P.M., *Les maladies à prions*, Que sais-je ?, PUF, 2002).

La première maladie, dont il a été démontré par la suite qu'elle était liée à la présence d'un prion pathologique, fut décrite en 1730. Elle fut observée par des éleveurs anglais dans des troupeaux d'ovins. Il s'agit de la « Tremblante du mouton » (ou « *scrapie* »). C'est à la fin du XIX^e siècle qu'on a dépeint, pour la première fois, les lésions cérébrales qu'elle occasionne, notamment la présence de vacuoles (C. Benoit). En 1936, deux vétérinaires français J. Cuillé et P.L. Chenu parviennent à transmettre la maladie à des animaux par inoculation. Ils publient leurs travaux dans les *Comptes rendus de l'Académie des sciences*. Ces recherches sont reprises par un vétérinaire anglais, Dick Chandler, qui parvient à déclencher la maladie par inoculation chez la souris (1961). En 1966 (cf. *supra*), Alper et Latarjet observent que l'agent de la tremblante résiste à des doses élevées d'ultraviolet et suggèrent qu'il ne s'agit pas d'un virus. Enfin, c'est en 1982 que Stanley Prusiner purifie l'agent infectieux qu'il dénomme prion.

C'est en 1920 que, dans le service de neuropathologie d'Alois Alzheimer, le découvreur de la tristement célèbre maladie neurologique, Hans Creutzfeldt et Alfons Jakob décrivent les manifestations de la maladie qui porte leur nom. Les cerveaux des malades sont parsemés de trous microscopiques (apparence spongiforme) et renferment des dépôts ayant la forme de plaques, comme dans le syndrome d'Alzheimer. Ces plaques dites amyloïdes, sont des agrégats protéiques (prions, débris neuronaux). La maladie de Creutzfeldt-Jakob (MCJ) se traduit par une démence et son issue est fatale.

On sait aujourd'hui qu'elle peut exister sous plusieurs formes :

a) La plus répandue est la forme dite « sporadique ». Entre 1992 et 2001, on avait décompté 540 décès en France. Son incidence est prépondérante après 64 ans. La cause en est inconnue. Il pourrait s'agir d'une mutation spontanée du gène PRNP codant pour la protéine PrP ou d'une conversion spontanée de la forme saine en une forme pathologique, etc. Elle se manifeste par une démence précoce rapidement progressive, des troubles de l'équilibre, des anomalies visuelles et, histologiquement, par une spongiose cérébrale, une inflammation gliale, une perte neuronale, avec toutefois l'absence de PrPsc dans les biopsies des amygdales.

b) Il existe des formes « génétiques » beaucoup plus rares. Elles sont liées à des mutations du gène PRNP. Elles peuvent affecter le codon 200 (MCJ familiales), et sont transmissibles héréditairement ; elles peuvent également affecter ce gène au codon 129 ou 178, causant ce que l'on dénomme une « insomnie familiale fatale ». C'est ce qui donne à penser que la protéine « normale » jouerait un rôle dans l'équilibre veille-sommeil. On

connaît également des cas d'insomnie fatale sporadique (non héritables). Aussi, la modification sporadique du codon 102 entraîne le syndrome de Gerstmann-Straüssler-Scheinker.

c) On connaît enfin des formes dites « iatrogènes », celles surtout qui ont suscité le plus d'émoi de par le monde, et entraîné des mesures de sécurité d'une ampleur considérable (abattages à grande échelle des troupeaux ou élevages suspects, interdiction d'utiliser des farines animales pour la nourriture d'élevage, mesures de confinement à l'échelle nationale ou internationale, embargos sur certaines exportations) assorties de la création de nouvelles « agences », par exemple, en France, l'Agence française de sécurité sanitaire.

Une des manifestations de contamination particulièrement sérieuse ayant occasionné 79 décès en France entre 1991 et 2001, fut consécutive à l'administration d'hormone de croissance pour le traitement des petites tailles. L'hormone était, en effet, dans les débuts, extraite des hypophyses prélevées sur des cadavres humains dont certains se trouvaient être contaminés. La greffe de cornée ou de dure-mère, certaines transplantations ont également engendré quelques cas.

Le kuru, maladie neurologique (voir *infra*), peut être rangé dans la catégorie des formes iatrogènes de MCJ. Cette singulière maladie fut décrite, pour la première fois, en 1957, par un épidémiologiste australien, Vincent Zigas et un médecin américain, Carleton Gajdusek. Elle sévit dans les populations de Papouasie-Nouvelle Guinée (on dénombreait 2000 décès en 1950). Son étude approfondie allait valoir l'attribution du prix Nobel à Gajdusek en 1976 (lequel a établi par ailleurs sur des bases épidémiologiques, avec Françoise Catala, un lien entre l'agent infectieux de la tremblante du mouton et celui de la maladie de Creutzfeld Jakob). L'origine du Kuru est la consommation de cerveaux prélevés sur des cadavres humains (cannibalisme).

Mais les craintes se sont encore amplifiées lorsqu'est apparu, en 1996, un nouveau « variant » de MCJ, entraînant la mort de personnes jeunes (d'âge inférieur à 30 ans) assortie de signes histologiques distincts de ceux observables dans le cerveau des personnes décédées de la forme courante sporadique. Les lésions se présentent en effet comme des amas amyloïdes entourés de vacuoles (plaques « florides »). Il a été établi que l'agent responsable était un prion responsable par ailleurs de l'encéphalopathie spongiforme bovine (ESB) et que, selon toute probabilité, les malades atteints de la forme dite « floride » due au variant MCJ, avaient contracté la maladie après consommation de viande bovine contaminée. 103 cas (à la date de 2001) avaient été observés au Royaume-Uni, un en Irlande et trois en France. On ignore toujours pourquoi

le nouveau variant affecte des sujets plus jeunes que la forme sporadique responsable de MCJ. La durée d'incubation qui, dans ce dernier cas, semble être en moyenne d'environ 40 ans, pourrait-être plus courte chez les personnes jeunes.

Les facteurs génétiques individuels sont probablement importants¹¹ en ce qui concerne l'évolution et la durée d'incubation de la maladie MCJ sur un plan général.

De nombreux travaux ont été entrepris en vue d'établir des tests diagnostics qui permettraient de déceler les signes avant-coureurs d'encéphalopathies à prions, ce qui serait à l'évidence d'un grand intérêt pour les personnes à risque, les asymptomatiques mais également pour les examens vétérinaires.

À l'heure actuelle, diverses études reposent sur l'hypothèse que des altérations spécifiques pourraient être décelées, par exemple dans des prélèvements sanguins par une analyse systématique du protéome plasmatique ou par étude des transcriptomes. Divers procédés immunologiques sont également à l'étude.

Pour l'heure, lorsque le clinicien confronté à un patient vivant est amené à suspecter la présence d'une MCJ, en fonction de signes neurologiques, voire de démence, il doit faire appel à un faisceau d'examens (biopsies amygdaliennes, ponctions lombaires, recherche de décharges périodiques significatives de la MCJ sporadique par électro-encéphalogramme).

En ce qui concerne les possibilités thérapeutiques, elles demeurent limitées en dépit d'une multitude de recherches menées à travers le monde, impliquant les familles les plus diverses de molécules, recherches dont le but est de bloquer la synthèse de la protéine normale ou d'empêcher sa conversion pathologique.

Pour l'heure, aucune de ces molécules ne peut éviter le développement de la spongiose ni l'issue fatale de la maladie. Certaines permettent toutefois d'allonger la durée d'incubation. Des essais sont réalisés avec la diapson, un

11. On a pu déterminer que 70 % des personnes atteintes de MCJ sporadique sont homozygotes vis-à-vis de la variance de codage du triplet 129 au sein du gène PRNP. Elles sont de type Met-Met (Met : méthionine), 15 % sont homozygotes val-val (val : valine), le codon 129 pouvant coder l'un ou l'autre de ces deux acides aminés. Enfin 15 % sont hétérozygotes. Chez les personnes saines, ces valeurs sont 40 %, 10 % et 50 % respectivement. Enfin, toutes les personnes atteintes par le nouveau variant sont, génotypiquement, Met-Met (données fournies par l'INSERM *in Repères*, sept. 2006, p. 9).

agent utilisé dans le traitement de la lèpre. Il a également été observé qu'un antifongique, l'amphatéreine-B retarderait, de façon significative, la manifestation de la maladie. D'autres substances telles que le rouge congo et le pentosan polysulfate semblent prometteuses.

II.1.2. MALADIES GÉNÉTIQUES – THÉRAPIE GÉNIQUE

La génétique moléculaire, sous des aspects les plus divers, est en train de révolutionner la médecine. Si, comme nous le verrons plus loin, sa traduction thérapeutique n'est pas, pour l'heure, aussi marquée qu'on pourrait l'espérer (mis à part l'enrichissement de la pharmacopée moderne grâce aux biotechnologies d'inspiration génétique), elle a fait réaliser des progrès énormes en ce qui concerne l'étude du mode d'action des maladies, leur nosologie et la prévision de leur survenue. On peut donc parler, comme l'ont avancé en France, Jacques Ruffié et Jean Dausset d'une véritable médecine prédictive¹².

II.1.2.1. Historique

C'est principalement au cours du xx^e siècle, à la suite des progrès réalisés en génétique moléculaire, puis en génomique, qu'a été mise en lumière l'existence très fréquente d'une composante génétique de nombreuses maladies. Rappelons que les mutations responsables peuvent apparaître spontanément, indépendamment du patrimoine génétique hérité des parents. On sait par exemple que 3 à 4 % des nouveaux-nés en sont atteints. À côté de ces mutations spontanées existe une grande variété de mutations héréditairement transmissibles.

La mise en évidence de maladies et syndromes morphologiques ou physiologiques à caractère héréditaire est cependant assez ancienne : ainsi en 1791, le savant et académicien Maupertuis décrit le syndrome appelé « polydactylie ». Mais c'est le médecin français Duchenne, élève du grand neurologue Charcot qui met en lumière le premier cas de maladie musculaire d'apparition précoce, qu'il dénomme « myopathie » (plus tard appelée « maladie de Duchenne » (1868). Peu après, C. Darwin (1875) décrit la dysplasie ectodermique et Huntington, la maladie neurologique (chorée) qui désormais porte son nom. Mais ce sont principalement les travaux d'un médecin anglais travaillant à l'hôpital Saint-Bartholomew de Londres, Archibald Garrod qui permettront, en 1901, le premier diagnostic véritable d'une maladie « héréditaire », l'alcaptonurie, détectable par le noircissement des urines. Cette

12. Le cas des maladies infectieuses a fait l'objet d'un chapitre particulier.

affection, sans gravité, est due en réalité à une mutation affectant la conversion métabolique d'un acide aminé, la tyrosine. Garrod put établir que ce défaut était héréditaire et que sa transmission obéissait aux lois de Mendel. Il décrit un peu plus tard d'autres affections héréditaires du métabolisme telles que la porphyrie, la cystinurie, etc. (1909 : *Inborn errors of metabolism*). La phénylcétonurie qui est encore systématiquement diagnostiquée de nos jours, du fait de ses incidences hématologiques, a été décrite en 1934. Un progrès décisif fut accompli dans la compréhension de ce type de maladies « héréditaires » lorsqu'il devint possible de corréler la mutation qui en est à l'origine avec une modification moléculaire extrêmement précise. Cette réalisation est le fruit des travaux de V. Ingram et H. Dintzis (dans les débuts des années 50), élèves du grand biologiste Linus Pauling. Ils purent en effet établir que l'anémie dite « falciforme » (ainsi nommée parce que les hématies des patients revêtent une morphologie en « faucilles »), maladie également connue sous le nom de « drépanocytose », est due à une mutation au sein du gène codant pour la chaîne « β » de l'hémoglobine et qu'elle entraîne le remplacement d'un seul et unique amino-acide au sein de cette chaîne polypeptidique. (L. Pauling avait parlé à ce propos de « maladie moléculaire »). Le terme de maladie génétique devint, dès lors, d'usage courant. On distingue aujourd'hui parmi les maladies génétiques, celles qui, comme la drépanocytose, sont liées à une mutation unique dans un gène bien déterminé et que l'on qualifie de « monogéniques » et celles qui sont associées à la présence de mutations au sein de plusieurs gènes ; ces dernières sont dites « polygéniques » ou encore « polyfactorielles ». On y associe toute une série de syndromes tels que l'asthme, l'obésité, l'arthrite rhumatoïde etc. qui ont une composante génétique.

La caractérisation des maladies monogéniques a fait d'immenses progrès au cours de ces dernières décennies... Alors qu'à l'époque des premiers travaux de V. Ingram et H. Dintzis, on pouvait les compter sur les doigts d'une main, plus de 5 000 d'entre elles sont répertoriées aujourd'hui. Leur incidence est généralement faible ou très faible, variant entre 1/10 000 et 1/100 000 ou moins, ce qui a conduit au concept de « maladies rares ». Ce concept ne repose pas seulement sur un constat numérique. Il a pour but d'attirer l'attention du public, du monde médical, pharmaceutique et politique sur la nécessité de ne pas être conduit à ranger ces maladies, souvent graves, chroniques et parfois mortelles, dans le groupe des maladies oubliées (un « Institut des maladies rares », institut sans mur, a d'ailleurs été créé en France, il y a quelques années). Leur existence soulève donc un véritable problème d'éthique sociale, au même titre que celui des handicaps physiques ou psychiques, d'autant que la faible fréquence de leur survenue n'incite guère l'industrie pharmaceutique à réaliser des investissements significatifs pour la mise au point de traitements thérapeutiques éventuels.

De surcroît, si l'on considère l'ensemble de ces maladies génétiques, on a pu estimer qu'elles frappaient, en France, par exemple, près de trois millions de personnes et au moins 25 millions en Europe !

II.1.2.2. L'exemple de la myopathie de Duchenne (DMD) – Un cas d'école

L'étude de ces maladies a connu toutefois, comme déjà souligné, un grand essor dans le début des années 80 lorsque Monaco et Kunkel réussirent, pour la première fois, à caractériser la cible moléculaire d'une maladie génétique particulièrement grave, la myopathie de Duchenne (en anglais : *Duchenne muscular dystrophy*, ou DMD), maladie affectant les muscles dits « squelettiques » (ou muscles « volontaires », parfois appelés muscles striés, par opposition aux muscles lisses et cardiaques). En effet, les premiers travaux du groupe américain, vite amplifiés par la mobilisation collective de nombreuses équipes dont beaucoup furent encouragées par les Associations de patients et de leurs familles (en France l'AFM : Association française contre les Myopathies) permirent d'établir que la DMD est une maladie liée au chromosome X et qu'elle affecte un très grand gène codant pour une protéine de structure des muscles, la « dystrophine ». Cette protéine située sous la membrane musculaire (sarcolemme) est de masse moléculaire très élevée. Elle comporte des régions en hélices et des domaines moins structurés. Elle est associée, à l'intérieur de la fibre musculaire au réseau des « actines » et elle comporte, à la surface membranaire, projeté vers l'extérieur de la fibre contractile, un réseau complexe de polysaccharides et de glycoprotéines (ou sarco-glycanes).

Les mutations du gène DMD peuvent être de type ponctuel (souvent capables de modifier le cadre de lecture, donc interrompant, en aval, le tissage de la chaîne polypeptidique au cours de sa synthèse) ; elles peuvent, plus souvent, se manifester par des délétions plus ou moins longues du gène, certaines altérant les promoteurs. Selon la nature des sites modifiés, la cellule musculaire continuera ou non à fabriquer des segments plus ou moins longs de dystrophine. Lorsque certains de ces segments sont de taille suffisante pour conférer à la fibre musculaire une résistance mécanique lui permettant d'assurer, pendant des durées plus ou moins longues, les cycles de contraction auxquels elle est normalement soumise, il en résultera une forme atténuée de myopathie, dite myopathie de « Becker ». En revanche, lorsque les segments de dystrophine synthétisés sont insuffisamment longs, les membranes sarcolemmiques présenteront de nombreux points de rupture suivis d'une pénétration accrue de certains ions et d'une protéolyse plus ou moins prononcée assortie souvent d'une fibrolyse étendue. D'autres mutations peuvent déstabiliser

l'édifice auquel participe la dystrophine en affectant les glycoprotéines extramembranaires. Elles donnent lieu à d'autres formes de myopathies (ex. : sarcoglycanopathies).

En bref, l'étude génétique de la myopathie de Duchenne a illustré, de façon saisissante, à quel point la biologie moléculaire et le support technologique qu'implique son développement, pouvaient permettre de préciser le phénotype global d'une maladie et, par conséquent, d'en mieux définir la nosologie¹³.

Cette situation se traduit aujourd'hui par un enrichissement sans précédent du cadre nosologique des maladies de type héréditaire. Ainsi, avant les premiers travaux de Kunkel et Monaco, déjà cités, on ne connaissait que quelques myopathies. Aujourd'hui plus d'une centaine de types de maladies neuromusculaires, incluant d'ailleurs des myopathies mitochondriales, a été caractérisée. Dans nombre de cas, les gènes-cibles ont été clonés et leurs produits identifiés. Dans d'autres, ils ont été localisés avec suffisamment de précision pour qu'on puisse exclure toute synonymie¹⁴.

II.1.2.3. Les affections neurologiques

À l'heure actuelle, des maladies génétiques humaines ont été décrites pour la plupart des tissus ou organes. C'est le cas par exemple de nombreuses affections neurologiques concernant, soit le système nerveux central (ex. : Huntington ; retard mental lié à l'X ; Parkinson ; Alzheimer) ou périphérique (ex. : sclérose latérale amyotrophique, amyotrophies spinales, ataxie de Friedreich, etc.). Le gène affecté dans la maladie d'Huntington code pour une protéine l'huntingtine, dont le rôle est encore inconnu. La maladie se traduit par une dé-coordination sérieuse des mouvements (chorée) et n'apparaît généralement que vers l'âge de 40 ans. Il en résulte un grave problème d'ordre éthique lié à l'opportunité d'informer les personnes atteintes et leurs familles.

Diverses maladies neurologiques ont une composante génétique complexe et sont consécutives ou associées à la présence de mutations dans

13. Étude des caractères distinctifs permettant de définir les maladies.

14. Certaines de ces maladies neuro-musculaires peuvent présenter un phénotype complexe. Tel est le cas de l'ataxie de Friedreich qui se traduit par des atteintes neurologiques, une cardiomyopathie et parfois du diabète. Le gène à l'origine de la maladie a été identifié en 1996. Les mutations qui l'affectent, entraînent un déficit de protéines conduisant à une accumulation anormale de fer dans les mitochondries. Cette anomalie entraîne, à son tour, la production de « radicaux libres » qui ont des effets toxiques sur divers tissus dont ils peuvent provoquer la dégénérescence ou la mort (A. Munnich).

des gènes de nature différente, situés souvent sur des chromosomes différents. C'est le cas, par exemple, de la maladie d'Alzheimer dont est atteinte une fraction significative de la population au-delà de 60 ans. Le plus souvent, la maladie est associée à un cumul d'altérations affectant à la fois un ou plusieurs gènes de structures ainsi que des gènes dits de « susceptibilité » (c'est-à-dire dont les mutations augmentent la probabilité de survenue de la maladie, cf. *infra*). L'un des gènes de structure affecté dans la maladie d'Alzheimer est une enzyme, la γ -synthétase dont le rôle normal est impliqué dans le clivage d'une protéine de membrane la préséniline. Si le clivage est anormal, il conduit à la formation d'une protéine qui s'agrège au voisinage des neurones centraux, ce qui se traduit par l'apparition de plaques caractéristiques (dont la détection cytologique sur des cerveaux *post-mortem* sert d'identification nosologique). Ces « plaques » sont appelées dépôts, ou « amas amyloïdes ». D'autres altérations sont également décelées à l'intérieur des neurones eux-mêmes. Elles sont attestées par l'existence de malformations neurofibrillaires (les *neurofibrillary tangles*). Leur apparition est due à des changements apparus au sein d'une protéine, la protéine « tau », un cofacteur intervenant normalement dans la polymérisation et le maintien des neurotubules. Si l'on ajoute à ce tableau, déjà en soi fort complexe, le fait que certaines mutations affectant le gène de l'apolipoprotéine peuvent, selon les cas, soit accroître la fréquence et la rapidité de survenue de la maladie, soit exercer un relatif effet protecteur, on réalisera l'ampleur de la tâche liée à l'étude des causes des maladies à multicomposantes génétiques.

D'autres maladies neurologiques (mais également non neurologiques comme la myotonie) relèvent d'un mécanisme génétique très singulier reposant sur l'existence, au sein du génome, de courtes séquences répétitives. Il s'agit des maladies « à expansion de triplets ». Dans le cas de l'affection dite du « retard mental lié à l'X », mais aussi dans d'autres troubles du développement cérébral, on observe assez souvent la surabondance de courts motifs répétés. Il s'agit, par exemple, de codon CGG (retard mental dit « à l'X fragile », J.-L. Mandel), du codon GAA (ataxies spinocérébelleuses), du codon GAA (ataxie de Friedreich), ou encore du codon CAG (dystrophie myotonique, ataxies spinocérébelleuses, Huntington). À l'état normal, ces codons forment des chaînes itératives de 20 à 30 motifs juxtaposés « en tandems » dans l'ADN chromosomique. Mais il peut arriver que, dans certaines familles, l'itération augmente à chaque génération et qu'elle puisse alors causer, par chevauchement, des changements pernicious dans l'activité de gènes essentiels situés au voisinage.

II.1.2.4. Gènes de susceptibilité – Polymorphisme et maladies – Gènes du système HLA

Comme cela a déjà été signalé, les mutations ne sont pas automatiquement responsables du déclenchement d'une maladie. Elles peuvent ne se manifester par aucun phénotype pathologique ou tout au plus provoquer un « syndrome physiologique » sans réelle gravité. La probabilité d'apparition de la maladie qui peut en résulter, dépendra bien entendu de la nature du gène et de son rôle dans l'économie physiologique de l'individu mais aussi de la nature du changement occasionné dans la « séquence » du gène cible. L'intensité de la manifestation pathologique est également tributaire de l'environnement et elle est également fonction du terrain génétique global de l'individu concerné. Ainsi, une même mutation apparaissant chez deux individus distincts et concernant le même gène pourra dans un cas entraîner une maladie grave et dans l'autre ne se traduire que par un syndrome léger, voire par aucune manifestation.

Ce « terrain génétique » est par définition complexe. On peut y associer des particularités épigénétiques (ex. : degré de méthylation de certaines portions de l'ADN) mais aussi, et surtout, des gènes de susceptibilité (ou de prédisposition) et des polymorphismes ou variations génétiques.

L'existence des gènes de prédisposition a été particulièrement bien documentée dans la recherche des causes d'apparition des cancers (cf. *infra*) et nous en avons vu des exemples se rapportant aux maladies à composantes multigéniques. Il existe une famille particulière de gènes de prédisposition qui a fait l'objet d'études très poussées dans la mesure où le système auquel contribuent ces gènes, le système HLA, intervient de façon prédominante dans la compatibilité aux greffes d'organes et dans la reconnaissance immunologique, mais aussi parce qu'il se trouve être associé au degré de susceptibilité et de résistance vis-à-vis de diverses maladies.

● *Système HLA et prédisposition aux maladies*

Le système HLA comprend au moins une demi-douzaine de gènes auxquels sont juxtaposés pour la plupart sur le chromosome 6 chez l'homme. Parmi les gènes principaux tels que A, B, C, DR, DQ, OH, certains sont situés au voisinage du centromère et d'autres du télomère. Ainsi, chez l'homme, les gènes HLA pré-centromériques sont dits de classe II, ceux de classe I étant localisés près du télomère. Toutefois, il existe un grand nombre d'autres gènes HLA occupant d'autres positions. Les produits de ces gènes sont des glycoprotéines présentes à la surface de la plupart des cellules somatiques, dont le rôle est de « présenter » les antigènes étrangers aux cellules T lymphocytaires, cellules dont certaines sont cytotoxiques.

Chacun de ces gènes comprend des variations dans sa séquence (variantes appelées « allèles »). Celles-ci peuvent être très nombreuses (ex. : plusieurs centaines pour le gène B) et puisque chaque personne reçoit une série de ces « variants » par hérédité parentale, il en résulte que les combinaisons d'allèles de gènes HLA peuvent atteindre des valeurs numériques extrêmement élevées. Pour le professeur J. Dausset qui reçut le prix Nobel de physiologie et médecine pour ses travaux sur le système HLA (1980), ces combinaisons alléliques constituent le « sceau de l'individualité génétique de chacun de nous ».

La fonction des gènes HLA est de permettre la distinction de ce que les immunologistes appellent le soi, du non-soi en conférant à l'organisme la possibilité de rejeter, immunologiquement, ce qui lui est étranger. Comme signalé plus haut, certaines variations (certains allèles) des gènes HLA sont associées à des risques accrus de maladies, dans des proportions variables. La connaissance de tels variants permet donc d'établir, en principe pour chaque individu, le risque de développer telle ou telle pathologie définie. Par exemple, un individu porteur de la variante B₂₇ du gène HLA-B est confronté à 88 fois plus de risques de contracter une spondylarthrite ankylosante (sclérose de la colonne vertébrale). La présence du variant HLA-DQB₁ est associée à une probabilité 50 fois plus grande de développer une rétinopathie (type *bird-shot*) et une narcolepsie (tendance à la somnolence). On connaît d'autres allèles HLA dont la présence est associée au développement de maladies auto-immunes tels que le diabète de type I chez l'enfant, ou la myasthénie, (maladie des muscles volontaires consécutive à la fabrication pathologique d'anticorps dirigés contre le récepteur musculaire à l'acétylcholine), ou encore la sclérose en plaque, la polyarthrite rhumatoïde, etc. Inversement, on connaît des variants alléliques qui confèrent une résistance naturelle contre certaines affections. Ainsi en est-il de HLA-DR₂ qui protège l'individu porteur contre le diabète infantile ou encore HLA-B₅₃ qui confère une résistance au paludisme, etc.

● Gènes de susceptibilité et polymorphismes type SNP

Indépendamment des variants génétiques du système HLA, on connaît aujourd'hui un grand nombre de gènes de prédisposition ou de résistance naturelle à diverses pathologies. Plusieurs d'entre eux sont par exemple en rapport avec la probabilité de développer certains cancers. Ainsi le gène APC (présent sur le chromosome 5q21) est en partie responsable, sous certaines formes alléliques, de la survenue du cancer du colon avec polypes (1 % des formes familiales). Des altérations du gène BCRA (chromosome 17q) sont associées à près de 40 % des formes familiales de cancers du sein à développement précoce, accompagnées souvent du cancer de l'ovaire. Un second gène de susceptibilité BCRA₂, sur le chromosome 13, rend compte d'autres cancers du sein de type

familial. Ce ne sont là que des exemples parmi beaucoup d'autres. La connaissance des gènes de prédisposition est à l'origine de l'essor d'une nouvelle forme de médecine baptisée « médecine prédictive », médecine aux deux visages puisque, d'un côté, elle devrait permettre d'instaurer assez tôt dans la vie des personnes à risque des traitements appropriés mais que, d'autre part, le fichage génétique individuel s'il était systématisé, voire obligatoire, pourrait entraîner des déviations de toute nature et devrait en tout cas être fortement encadré au plan législatif. Signalons, enfin, qu'à côté des gènes de susceptibilité à une maladie qui peuvent être sièges de mutations donnant lieu à une probabilité accrue d'en voir la manifestation, existent, disséminés dans le génome, des centaines de milliers de changements ponctuels ou « variations » pouvant ne concerner qu'une seule base de l'ADN. Ces polymorphismes au niveau d'un nucléotide unique, ou SNP, sont, comme nous l'avons déjà souligné, associables, statistiquement parlant, soit à des sensibilités accrues vis-à-vis de certaines pathologies, soit à des incompatibilités médicamenteuses. On sait que la localisation et la nature de ces polymorphismes diffèrent selon les ethnies, ce qui a incité parfois à des recherches comparatives relevant d'une génétique des populations. Dans d'autres cas, ces polymorphismes pourraient permettre d'établir, à l'intérieur d'une population donnée, les degrés d'efficacité de certains médicaments, en fonction des polymorphismes observés dans les sous-groupes ethniques. Cette pharmacogénomique qui en est à ses débuts pourrait donc augurer d'une « pharmacothérapie à la carte » (le repérage dans une carte de variants SNP connus pour être responsables d'incompatibilité médicamenteuse pourrait alors conditionner une prescription ciblée).

II.1.2.5. Thérapie génique – Le gène médicament et la chirurgie du gène

Depuis les débuts des années 90 (Anderson, M. Blaese), les biologistes ont tenté de corriger les maladies génétiques ou d'en atténuer les effets en ayant recours à la thérapie génique, chez des animaux de laboratoire tout d'abord puis chez l'homme. L'idée de cette intervention était simple : introduire dans le génome d'un animal malade ou d'un patient porteur d'une mutation, cause d'une maladie génétique déterminée, (ex. myopathie de Duchenne, mucoviscidose, affection immunitaire ou cancers spécifiques), un gène approprié capable de suppléer la fonction déficiente provoquée par la mutation, et de corriger ainsi une altération physiologique ou un trouble de développement. L'introduction du gène « compensateur », ou « correcteur », est réalisée en ayant recours à un véhicule moléculaire, appelé « vecteur » auquel le « gène-médicament » est associé artificiellement et l'on attend de cette intervention que le « gène d'intérêt » soit incorporé dans l'ADN du patient pour corriger les conséquences phénotypiques de la mutation. En général, deux voies d'intervention ont été

utilisées : dans l'une d'elles, les cellules du patient (le plus souvent d'origine médullaire, parfois également des kératinocytes) sont cultivées *in vitro*, traitées par le recombinant « gène-vecteur », puis réinjectées chez le donneur. Dans d'autres cas, on utilise la voie systémique c'est-à-dire que le traitement se fait directement *in vivo*. Les vecteurs utilisés sont souvent des virus offrant l'avantage de pouvoir s'intégrer dans le génome cellulaire. Il s'agit, certes, de virus préalablement « désarmés », c'est-à-dire qui ont été privés de leur pouvoir de réplication. On a recours, dans bon nombre de cas, à des rétrovirus (pour les interventions *ex-vivo*) et à des adénovirus, ou au virus AAV (*associated adenovirus*) pour une thérapie directe, *in vivo*.

Le nombre d'essais qui ont été réalisés chez l'animal – le plus souvent la souris, porteuse d'affections d'origine génétique bien déterminées – est considérable, essais souvent assortis de résultats spectaculaires (ex. : guérison de la souris drépanocytaire, porteuse de la mutation responsable de l'anémie falciforme).

Toutefois les essais de thérapie génique chez l'homme ont, à part une exception remarquable (cf. *infra*), rencontré de sérieuses difficultés. Celles-ci peuvent ressortir de plusieurs causes : trop faible expression du « transgène » (c'est-à-dire du gène introduit artificiellement à des fins thérapeutiques), limitation dans la production des vecteurs appropriés, incapacité du transgène à s'intégrer dans le génome de l'hôte ; production de lymphocytes cytotoxiques ou d'anticorps dirigés contre certains motifs chimiques de la protéine nouvellement exprimée, etc.

● *Travaux d'A. Fischer et M. Cavazzana Calvo*

On sait cependant qu'un protocole de thérapie génique a pu être appliqué avec succès à l'espèce humaine, grâce aux travaux réalisés en 2000 par le groupe d'Alain Fischer et de Marina Cavazzana-Calvo à l'Hôpital Necker. Ces chercheurs sont parvenus à guérir de jeunes enfants atteints d'une maladie très sévère entraînant l'incapacité de la moelle osseuse à synthétiser les lymphocytes T et NK (*natural killers*). Il en résulte, chez les enfants non traités, un défaut grave de résistance à toutes sortes d'infections ; d'où l'obligation pour assurer leur survie, de les maintenir totalement isolés dans une atmosphère confinée (enfants bulles). La mutation responsable affecte la synthèse du récepteur aux cytokines (facteurs indispensables à la maturation des lymphocytes). A. Fischer et M. Cavazzana-Calvo ont eu l'idée de transférer le gène non muté grâce à un vecteur rétroviral dans les cellules progénitrices hématopoïétiques prélevées de ces jeunes patients, de les mettre en culture pour en augmenter le nombre puis de les injecter à nouveau une fois modifiées. Ce procédé a été répété sur un certain nombre « d'enfants bulles », souvent avec un succès quasi

total et apparemment durable, permettant d'abandonner tout confinement. Dans deux cas toutefois (en 2002 puis 2003), les bébés traités sont décédés des suites d'une leucémie consécutive à l'intégration du gène compensateur au voisinage d'un « proto-oncogène » qui s'est ainsi trouvé activé. Désormais, il semble que les équipes aient réussi à maîtriser les modalités d'intégration du gène étranger ce qui devrait permettre d'intervenir sur une plus large échelle avec succès (des guérisons désormais plus nombreuses sont enregistrées).

De nombreux programmes de thérapie génique sont poursuivis au plan international. Toutefois, la piste de la thérapie génique est encore semée de difficultés signalées précédemment. Elle présente également des limites. Par exemple, l'introduction d'un très grand gène, comme celui de la dystrophine est difficile. Il existe également des maladies, comme la maladie neuromusculaire de Steinert où, en dépit de l'introduction d'un gène sain, le gène muté continuerait à produire des substances toxiques pour la cellule.

● *La stratégie du « saut d'exon »*

C'est la raison pour laquelle certains biologistes ont imaginé d'autres modes de « chirurgie du gène » que la thérapie génique classique. Citons, par exemple, le recours à des molécules ou à des ARN antisens permettant d'éviter l'arrêt prématuré dans la synthèse d'une protéine essentielle, consécutif à la présence d'un codon « stop », (signifiant « arrêt de lecture »). Une première solution repose sur l'utilisation d'une substance antibiotique telle que la tétracycline qui, en modifiant les propriétés du ribosome, l'oblige à franchir « le signal d'arrêt ». Des essais avec une molécule fabriquée par une firme américaine (*PTC therapeutic*) sont en cours dans le traitement de la musoviscidose et de la maladie de Duchenne.

Une autre approche technique, particulièrement ingénieuse, consiste à avoir recours à des ARN antisens pour empêcher la lecture par le ribosome d'un exon muté, lecture qui entraînerait selon la mutation, soit la formation d'une protéine « tronquée », soit la formation d'une protéine altérée dans sa séquence. Certains chercheurs ont eu l'idée (Goyenvalle *et al.*, 2004) de faire fabriquer par la cellule du patient à partir d'une construction génétique appropriée, un ARN antisens dont la séquence est complémentaire de celle de l'exon muté. L'ARN antisens vient alors s'apparier avec l'exon défectueux et l'occulter, ce qui évite au système d'épissage d'intégrer cet exon au sein de l'ARN messager mature. La protéine correspondante que synthétise la cellule traitée est plus courte mais elle demeure très souvent fonctionnelle. Des résultats très encourageants ont été obtenus par cette technique, dite du « saut d'exon », chez des souris (mdg) ou des chiens dystrophiques, avec restauration d'une dystrophine fonctionnelle.

Enfin, dans certains cas (tel celui de la maladie de Steinert déjà cité), l'ARN messenger muté s'accumule dans le noyau de la cellule et agit comme un élément toxique. Des chercheurs canadiens ont eu alors recours au phénomène d'interférence par l'ARN et ont donc réussi à détruire cet ARN messenger délétère. En résumé, il existe donc, comme on peut le voir, de très nombreuses « pistes » qui sont présentement explorées pour palier les défauts génétiques responsables de maladies très diverses. Il est à espérer, à travers les exemples évoqués ci-dessus que, dans un avenir plus ou moins proche, leur diagnostic facilité permette d'instaurer des traitements ou accompagnements thérapeutiques plus appropriés et que la liste des maladies justiciables de la thérapie génique finisse par s'allonger.

II.1.2.6. Maladies et malformations congénitales de l'enfant

Un aspect particulier du tribut humain, payé aux maladies génétiques dont les organisations internationales (OMS, CDC d'Atlanta, le programme « *March of dimes* », l'Alliance mondiale des organisations en faveur de la Prévention et du Traitement des affections génétiques et congénitales, l'Alliance génétique internationale des organisations de parents et de patients, etc.) commencent à prendre très sérieusement conscience, a trait aux maladies et malformations congénitales de l'enfant (en anglais « *birth defects* »).

Comme le souligne en particulier le docteur Ysbrand Portman, un récent rapport (MOD, 2006) révèle que la prévalence de l'ensemble des maladies génétiques et congénitales à la naissance atteint 8,2 % des enfants venus à terme dans les pays à faibles revenus, contre 4 % dans les pays industrialisés. On a pu établir que, chaque année, environ 8 millions d'enfants – soit 6 % de l'ensemble des naissances au plan mondial – viennent au monde avec un défaut sérieux, d'origine génétique avérée ou partielle. Des centaines de milliers naissent avec des défauts survenus après la conception, à la suite par exemple de maladies telles que la rubéole, la syphilis ou de la carence en iode. Ces défauts de naissance peuvent être létaux. Chez les enfants survivants, ils peuvent s'accompagner de troubles psychiques, physiques, auditifs ou visuels. On estime que 3,3 millions d'enfants de moins de 5 ans meurent des suites de ces désordres physiologiques chaque année, tandis que 3,2 millions d'enfants qui en survivent demeurent handicapés toute leur vie.

Les malformations ou maladies génétiques les plus fréquentes dont peut être atteint l'enfant à la naissance sont de diverses natures. Il peut s'agir de

défauts cardiaques congénitaux (plus d'un million de cas par an), de malformations du tube neural (plus de 150 000 cas), de désordres affectant la synthèse ou les propriétés de l'hémoglobine, tels que la thalassémie et la drépanocytose (plus de 150 000 cas), du syndrome de Down (environ 200 000) ou de déficience de la glucose-6-phosphate déshydrogénase (entre 150 000 et 200 000 cas).

Des efforts concertés commencent à voir le jour au niveau international, mais la mesure la plus évidente réside dans la formation des compétences en génétique médicale. L'urgence s'attache à la mise en place de « services de médecine génétique » qui soient bien intégrés dans les réseaux de santé publique. Cela implique un continuum dans le suivi, en ce qui concerne les soins, entourant la conception, la santé de la mère, l'accouchement, la santé du nouveau-né et du jeune enfant, la prise en compte des défauts ou maladies génétiques, sans parler du diagnostic précoce, de l'appréciation des risques et du conseil familial.

II.1.3. CELLULES SOUCHES ET THÉRAPIE CELLULAIRE (UN ESPOIR POUR LES MALADIES DÉGÉNÉRATIVES)

II.1.3.1. Considérations sur la biologie du développement

S'il est un thème de prédilection pour la biologie, c'est bien celui du développement. Comprendre les stades premiers de cet extraordinaire et fascinant processus qu'est la formation et la morphogénèse de l'embryon, sa transformation en organisme adulte, a de longue date défié l'imagination des premiers physiologistes et des embryologistes. Quels mystérieux plans d'organisation président à cette graduelle métamorphose ? Comment l'exécution de ce plan, inscrite dans l'œuf fécondé, conduit-elle à une architecture vivante propre à l'espèce ? Comment se forment les membres, les organes et tissus différenciés ? Là encore, la génétique a fait réaliser d'énormes progrès en apportant des réponses précises à bon nombre de ces questions. La découverte, dans la deuxième moitié du xx^e siècle, des gènes de développement et en particulier celle des gènes homéotiques chez la drosophile, la souris et l'homme, a éclairé le saisissant mécanisme du développement par « segments morphologiques », préfigurant ce qui d'une certaine manière équivaut à l'élaboration du « patron d'organisation » (*pattern*) du corps : tronc, membres, tête, ainsi que (pour les insectes) la position des ailes et des antennes. En dehors de ces gènes d'organisation, ou « gènes architectes » qui définissent les plans d'ensemble de l'architecture corporelle (cf. F. Gros : *Les secrets du gène*), il importait de mettre en lumière les « cascades » activatrices de ceux qui gouvernent la formation de parties spécialisées. À cet égard, l'un

des processus de développement et de différenciation tissulaire le mieux analysé au cours de ces dernières années, a sans doute été celui de la musculature squelettique (myogénèse). Une étape décisive a été la découverte par H. Weintraub des gènes de la famille MyoD, de leur rôle lors de la formation des premiers « myoblastes-précurseurs », formation suivie par celle des « myotubes », des « fibres musculaires » contractiles et de la musculature organisée. Aujourd'hui, on a inventorié, avec une extrême précision, la nature et le rôle des principaux gènes régulateurs intervenant dans la différenciation du « mésoderme » embryonnaire (*somites*), pour former les muscles contractiles des diverses parties du corps (M. Buckingham).

Mais le fonctionnement intégré des gènes régulateurs et des gènes de structure qui participent à un réseau de développement, ne suffit pas à expliquer la formation du corps dans son entier. Le corps humain, par exemple, comprend entre 10^{13} et 10^{14} cellules (de 10 000 à 100 000 milliards !). Le développement ne se résume pas à l'exécution, si parfaite soit elle, d'un programme complexe d'expression génétique dans le temps et dans l'espace. De très nombreux mouvements, invaginations, protrusions, etc. accompagnent la morphogénèse corporelle parallèlement à l'acquisition des spécialités physiologiques propres aux tissus et organes. On sait, également (D. Duboule, Ameisen) que les phénomènes d'apoptose (mort cellulaire programmée) sont, eux aussi, indispensables à la « sculpture du vivant ». Par exemple, sans une apoptose déclenchée à un stade précis du développement fœtal qui élimine chez certains mammifères, comme l'homme, le tissu interdigital, les extrémités de nos membres seraient palmées comme chez les oiseaux !

On sent bien que si l'on veut dresser une biologie du développement qui intègre des phénomènes aussi complexes, la recherche ne peut faire l'impasse sur l'embryologie générale et comparée. Il est capital de pouvoir suivre le fabuleux destin des premières cellules formées peu après la fécondation de l'ovocyte, de connaître les facteurs morphogènes et leurs « gradients » de distribution au sein de l'embryon, d'analyser la formation des premiers territoires pré-différenciés, précurseurs des tissus adultes, les trajets des premières cellules différenciées. L'embryologie moderne a apporté, à cet égard, des éclairages très précieux grâce au « marquage » de cellules précurseurs, distinguables d'après la morphologie de leurs noyaux, selon la technologie introduite par Nicole Le Douarin. Elle a notamment permis d'élucider les premiers stades de développement du système nerveux à partir de la plaque neurale et de préciser de nombreuses voies de différenciation.

Pourtant, de longue date, les embryologistes et les biologistes du développement ont été tentés de reproduire les étapes de différenciation des

tissus en ayant recours à des cultures *in vitro*, de cellules précurseurs. Cela les a conduits à caractériser, dans l'embryon en cours de développement, soit les toutes premières cellules ainsi programmées à se différencier, soit celles qui sont dotées du potentiel de former tous les tissus de l'organisme. Ainsi est né l'intérêt pour les cellules souches. Placées dans certaines conditions de culture, ces cellules ne font que se reproduire à l'identique. En revanche lorsque la composition du milieu est adéquate, c'est-à-dire lorsque sont présents les facteurs nécessaires, elles peuvent former *in vitro* un nombre plus ou moins élevé de tissus spécialisés. On distingue ainsi, parmi elles, des cellules dites « totipotentes », « multipotentes » ou « unipotentes », selon l'aptitude qu'elles possèdent à engendrer tous les tissus spécialisés (il en existe environ 200 types distincts chez l'homme), certains d'entre eux seulement ou un seul. Il existe deux grandes classes de cellules souches : les cellules souches embryonnaires (« *embryonic stem cells* » ou, en abrégé, cellules ES) et les cellules souches adultes. Comme leurs noms l'indiquent, les premières sont issues de jeunes embryons, âgés de quelques jours ; les secondes existent, en très petit nombre, au sein de tissus adultes différenciés. Les embryons, sources de cellules ES, résultent des divisions d'un ovocyte fécondé et prélevé peu après le stade de jeune morula. Ce stade, appelé blastocyste, comporte un amas de cellules internes (en anglais : *inner cell mass*) enrobées d'une couche de cellules épithélioïdes, le trophectoderme. Les cellules de la « masse interne » sont à l'origine de tous les tissus spécialisés de l'adulte tandis que les cellules de la couche externe formeront le futur placenta. Dans l'espèce humaine le blastocyste est généralement prélevé vers le 5^e jour après fécondation, lorsqu'il s'agit de procéder à des réimplantations *in utero* au cours d'une procréation médicalement assistée (PMA). C'est à partir des cellules de la masse cellulaire interne que sont isolées, après mise en culture, les cellules souches embryonnaires de mammifères. Avant d'en décrire les caractéristiques, nous donnerons quelques aperçus des cellules souches adultes.

II.1.3.2. Cellules souches adultes

- *Cellules souches sanguines*

Les cellules souches adultes sont généralement incluses, comme nous l'avons dit, en très petit nombre, au sein des tissus spécialisés présents dans l'organisme entier. Les plus connues sont les cellules souches de la moelle osseuse : notre sang est en effet une « usine » très active dont les éléments sont en constant renouvellement. On distingue aujourd'hui les cellules souches hématopoïétiques dites « de long terme » (ou LT-HSC) qui sont à l'origine de ce renouvellement au cours de notre vie. La différenciation des LT-HSC en cellules sanguines et lymphocytaires emprunte plusieurs étapes

successives : il y a en premier lieu formation de cellules souches hématopoïétiques de seconde génération à vie brève (*short term hematopoietic stem cells*), qui sont multipotentes ; après quoi, ces ST-HSC donnent naissance à des cellules non autorenouvelables, ou MPP, lesquelles sont finalement à l'origine des précurseurs immédiats du lignage des cellules lymphocytaires (cellules de l'immunité) et du lignage myéloïde (hématies, plaquettes). Les gènes impliqués dans cette cascade d'événements sont assez bien connus, de même que les facteurs de croissance y intervenant tels que les cytokines, l'érythropoïétine ; on a également connaissance des antigènes présents à la surface des divers intermédiaires cellulaires, ce qui permet de les trier le cas échéant. De longue date on pratique des transferts de moelle osseuse pour lutter contre diverses formes d'anémies résultant de maladies génétiques, des aplasies liées à des traitements chimiques anticancéreux ou à des irradiations, car les cellules précurseurs hématopoïétiques sont capables de reformer tous les éléments sanguins déficients. Malheureusement, les véritables souches hématopoïétiques de type LT-HSC sont très difficiles, voire impossibles à cultiver. Ce sont des cytokines, comme le GM-CSH (granulocyte – macrophage – *colony stimulating factor*) et l'interleukine-3 qui ont été les plus utilisés pour maintenir ces précieuses cellules dans un état polifératif. Plus récemment, on a eu recours, avec un relatif succès, au « *stem cell factor* » et à la « thrombopoïétine ».

À côté des cellules qui sont à l'origine de l'hématopoïèse au sein de la moelle osseuse, la partie mésenchymateuse de la moelle est riche en précurseurs de tissu endothélial, composante majeure (avec les muscles lisses) des vaisseaux sanguins. Certains auteurs ont postulé l'existence des précurseurs communs aux lignages hématopoïétiques et au système endothélial des vaisseaux (hémangioblastes).

D'autres auteurs ont cru pouvoir mettre en évidence, dans le tissu médullaire, de véritables cellules souches pluripotentes (Verfaillie) ayant des propriétés assez semblables à celles des cellules souches embryonnaires. Si la moelle constitue le véritable réservoir des cellules souches à destinée hématopoïétique, l'attention s'est également portée récemment sur d'autres sources. On trouve, en effet, de telles cellules souches dans le sang périphérique, le placenta, le cordon ombilical. L'utilisation clinique des cellules régénératrices de l'hématopoïèse est assez diversifiée, qu'il s'agisse de lutter contre les leucémies, les lymphomes, les maladies génétiques du sang, diverses maladies auto-immunes ou, comme déjà signalé, d'accompagner la chimiothérapie des cancers.

- *Autres types de cellules souches adultes*

Une autre catégorie de cellules souches adultes a fait l'objet de nombreux travaux et a donné lieu à des applications médicales remarquables. Il s'agit des cellules souches de l'épiderme cutané, elles-mêmes à l'origine des kératocytes convertibles en tissu épidermique et en follicules pileux (H. Green). La possibilité de les cultiver *in vitro* sur une large échelle s'est avérée d'une très grande utilité pour le traitement des grands brûlés.

Mais si les cellules souches hématopoïétiques et celles de la peau ont été de loin les mieux étudiées, de très nombreux travaux ont néanmoins été consacrés, depuis plus d'une décennie, à d'autres types de cellules souches adultes. Citons à ce propos celles du muscle squelettique, de la pulpe dentaire, des vaisseaux sanguins, du tissu endothélial et des muscles lisses, du système digestif, de la cornée, de la rétine, du foie, du pancréas... Une mention particulière doit être faite ici des travaux consacrés aux cellules-précurseurs, apparemment très voisines des véritables cellules souches du muscle squelettique (Montarras *et al.*, 2007), ce qui offre des perspectives importantes en thérapie cellulaire pour les dystrophies dégénératives de type Duchenne (cf. *supra*). (Dans la paroi aortique existe également une catégorie de cellules souches multipotentes qui se convertissent en cellules endothéliales et en cellules musculaires (Cossu G.).)

- *Cellules souches neurales*

Mais l'une des illustrations la plus remarquable et la plus inattendue concerne ici la découverte des cellules souches neurales capables de régénérer du tissu nerveux et glial. Leur existence est longtemps passée inaperçue et leur mise en évidence est relativement récente (B. Reynolds et S. Weiss, 1992 ; C. Lois et Buylha, 1993 ; Ron Mc Kay, 1997 ; F. Gage, 2000). Elle a suscité et continue de susciter un grand enthousiasme chez les neurobiologistes et en médecine, dans la perspective de thérapies cellulaires dirigées vers diverses maladies neuro-dégénératives. Un dogme a été ébranlé selon lequel les neurones du système nerveux central sont incapables de renouvellement. Les régions du cerveau des mammifères, où a été mise en évidence cette neuro-génèse, sont les zones sous-ventriculaires, (parties latérales des ventricules du cerveau antérieur (en anglais : *forebrain*)). Les cellules souches existant dans cette zone particulière engendrent *in vivo* des progéniteurs neuronaux qui migrent pour atteindre le bulbe olfactif au niveau duquel ils se convertissent en neurones granulaires. Cultivées *in vitro*, les cellules souches de la zone sous ventriculaire forment, en premier lieu, des amas de cellules arrondies, ou « neurosphères », avant que n'apparaissent les trois types majeurs de cellules neurales typiques du système nerveux central : neurones, astrocytes et oligodendrocytes.

D'autres sites de formation de neurones ont été décrits dans l'hippocampe, où résident les cellules de la zone granulaire (que les neuro-anatomistes appellent le gyrus-dentatus). On peut également ranger, dans la catégorie des cellules souches neurales, les cellules dites de la « crête neurale » (N. Le Douarin) lesquelles sont à l'origine des neurones sympathiques et para-sympathiques ainsi que de nombreux tissus non neuronaux. Enfin, et bien qu'il ne s'agisse pas, ici, de cellules souches adultes, les biologistes ont également observé que les cellules fœtales humaines provenant de la région du mésencéphale pouvaient être utilisées pour pallier, au moins temporairement, les dégénérescences neuronales qui surviennent chez les parkinsoniens et qui conduisent à la mort des cellules dopaminergiques (M. Peschanski)¹⁵.

Avant de quitter le chapitre des cellules souches adultes et de nous tourner vers les perspectives (et les débats) qui entourent l'utilisation potentielle des cellules souches embryonnaires humaines, il convient d'évoquer une série d'observations faisant état d'une propriété inattendue de cette première catégorie de cellules : à savoir leur plasticité.

● *Plasticité des cellules souches adultes*

En 1999, paraissait en effet un premier article faisant mention de cette propriété (C.R. Bjornson, 1999). Il y était relaté que, dans certaines conditions, des cellules nerveuses pouvaient adopter un phénotype de cellules hématopoïétiques ! De multiples exemples, venant en confirmation de cette étonnante « plasticité », allaient être avancés par la suite. Ainsi, des cellules de moelle, considérées par leurs auteurs comme d'authentiques cellules souches hématopoïétiques auraient, en dehors de leur capacité classique de régénération sanguine, celle de former, chez l'animal, des cellules de muscles squelettiques, selon des critères de marquage appropriés (Ferrari et coll., G. Cossu et coll., Muligan, Grusson et coll.). Elles posséderaient également l'aptitude à former des cellules du myocarde (Jackson et coll.), des cellules hépatiques (Patterson et coll., Lagasse et coll.) ou encore des cellules nerveuses (Woodbury). Symétriquement, en quelque sorte, on a rapporté la formation à partir de cellules souches de muscle de cellules sanguines chez des souris apasiques (c'est-à-dire dont la moelle osseuse n'est plus fonctionnelle). Des cellules de cerveau peuvent engendrer du muscle, etc. Ces diverses observations ont été interprétées comme prouvant l'existence, sous certaines conditions, de vrais processus de « transdifférenciation ». Certains auteurs (H. Blau) ont postulé que chez l'animal circulerait par la voie sanguine, des cellules souches ayant des

15. Il est intéressant toutefois de signaler qu'en 1999, l'équipe de Ron McKay avait observé que les cellules ES de souris pouvaient, dans certaines conditions de culture *in vitro*, se différencier pour former un grand nombre de neurones producteurs de dopamine.

potentiels de différenciation pouvant se traduire par tel ou tel phénotype selon la nature du tissu au voisinage duquel elles parviennent, cette différenciation s'exprimant en particulier lorsque ce tissu est lésé et libère ainsi des facteurs de tropisme appropriés. Une variante de cette hypothèse est que chaque niche tissulaire hébergerait divers types de cellules souches adultes présentant des potentialités de différenciation distinctes. Ce serait l'environnement créé par le tissu adulte avec lequel elles viennent en contact, en dernier ressort, qui déterminerait le destin phénotypique de ces cellules souches.

Sans remettre en cause les observations proprement dites se rapportant à ces phénomènes de « plasticité », il convient néanmoins d'être prudent quant à leur interprétation. En effet, des publications récentes semblent invalider l'hypothèse d'une transdifférenciation ; la fusion des cellules souches, propres à une niche tissulaire spécifique, avec des cellules différenciées d'autres tissus serait une explication pour le moins plausible !

II.1.3.3. Cellules souches embryonnaires

Quel que soit l'intérêt considérable des cellules souches adultes au plan fondamental et, dans certains cas précis, leur intérêt médical (cellules de la lignée hématopoïétique, kératinocytes), la plupart des scientifiques, et avec eux de nombreux médecins, attribuent aux cellules souches embryonnaires des potentialités beaucoup plus étendues face aux défis que posent les maladies dégénératives, même si, et pour autant, les problèmes éthiques qui s'attachent à leur emploi se situent à une autre échelle.

● *Historique*

L'utilisation de lignées de cellules souches embryonnaires type ES, a été l'aboutissement d'un assez long cheminement expérimental. Sans nous étendre, il convient de rappeler que la mise en évidence de ces cellules a été précédée par de nombreuses recherches menées dans la période d'après-guerre, sur une catégorie particulière de cellules multipotentes provenant de tumeurs cancéreuses développées dans des cellules sexuelles de souris. De ces « teratocarcinomes », il s'est en effet avéré possible d'isoler des cellules se comportant comme des cellules souches. Lorsqu'elles étaient introduites *ex vivo* dans un embryon de souris en développement, elles conduisaient, après transfert *in utero*, à la formation des souriceaux au pelage mixte dont les tissus provenaient, soit des cellules du carcinome, soit des cellules embryonnaires normales. Placées en condition *in vitro*, les cellules de carcinome embryonnaire pouvaient se différencier en plusieurs types de tissus : muscles squelettiques, cellules de myocarde, adipocytes, cellules nerveuses (F. Jacob, B. Mintz). En dépit de leur intérêt, leur

utilisation en thérapeutique s'avérait toutefois limitée par leurs propriétés tumorigènes.

On doit aux travaux pionniers de Gaël Martin, aux États-Unis, et de Martin Evans, en Grande-Bretagne, d'avoir levé cet obstacle en isolant pour la première fois d'embryons de souris, des cellules qui mises en culture, conservent leur capacité de différenciation même après de multiples divisions. Les cellules ES de souris allaient permettre, pendant de nombreuses années, de mener d'importants travaux d'embryogenèse *in vitro*. (Elles devaient également conduire, peu après, au développement des techniques dites de « *knock-out* » (Capecchi M.)) Toutefois, lorsque l'on voulut étendre l'observation réalisée chez la souris, on réalisa que peu d'espèces cellulaires se prêtent à l'établissement de lignées cellulaires permanentes, à partir de l'embryon et, pendant plusieurs années, l'isolement de telles lignées fut limité à une unique souche de souris (la souris 129).

● *Découverte des cellules souches embryonnaires humaines et applications potentielles*

Toutefois, en 1995, J. Thomson, de l'université du Wisconsin parvenait à cultiver des cellules ES à partir d'embryons de singe Rhésus puis, en 1998, avec ses collaborateurs, il montrait pour la première fois, que l'embryon humain peut se prêter à l'isolement des précieuses cellules ES¹⁶. Désormais, comme l'écrit Nicole Le Douarin (*in Thérapie cellulaire régénérative. Lettre de l'Académie des sciences* n° 20 (2006)) « une source inépuisable de cellules humaines propres à remplacer des cellules mortes ou inefficaces était, grâce au génie biologique, à la disposition de la médecine ». La possibilité de maintenir en culture des lignées de cellules souches embryonnaires humaines (*human embryonic stem cells* ou *hEC*) a suscité d'énormes espoirs dans le monde médical ainsi qu'au sein du public en général. Les cellules souches embryonnaires, du fait de leur pluripotence, s'offraient comme la solution idéale pour pallier, par thérapie cellulaire, des insuffisances physiologiques graves comme par exemple le diabète de type I, dû à la destruction immunologique des îlots de Langerhans du pancréas, ou des maladies dégénératives, notamment à caractère neural (Alzheimer, Parkinson) ou encore des traumatismes de la moelle épinière, toutes maladies ou dysfonctionnements graves pour lesquels la médecine est désarmée ou les traitements longs et pénibles. En ce qui concerne le diabète de type I et les espoirs caressés par la médecine

16. À peu près simultanément, un autre chercheur américain, John Gearhardt démontrait que des cellules pluripotentes humaines (dites EC) pouvaient être obtenues à partir de cellules germinales (destinées à former les gamètes) prélevées dans les ébauches des gonades de fœtus humains provenant d'avortements.

de procéder à une thérapie cellulaire, il convient de souligner que tandis qu'il ne s'est pas avéré possible jusqu'à présent de caractériser la présence de cellules souches adultes dans le pancréas ; en revanche, les scientifiques ont progressé dans la « transformation » des cellules souches embryonnaires en cellules produisant de l'insuline.

Des recherches, en relation avec les propriétés des cellules souches, ont également été réalisées avec l'objectif de lutter, de manière plus efficace, contre certains cancers.

En 1997, des chercheurs de l'université de Toronto ont identifié, pour la première fois, des cellules souches cancéreuses, en transférant quelques cellules souches sanguines provenant de patients leucémiques dans des souris et en montrant que celles-ci développaient également des syndromes leucémiques. Des cellules apparentées à des cellules souches ont également été isolées à partir de tumeurs du sein ou du cerveau. À l'image de ce qui s'observe pour les cellules souches de tissu sain, les cellules souches tumorales existent en très petit nombre mais elles se répliquent aisément donnant naissance à une multitude de cellules-filles. Mais contrairement aux cellules souches normales, elles sont insensibles aux mécanismes de régulation induisant l'arrêt de leurs divisions ! La chimiothérapie classique est capable de tuer la majorité des cellules tumorales mais, si quelques cellules souches cancéreuses survivent à ce traitement, un cancer peut à nouveau se développer. Des recherches portant sur les différences observables dans les spectres d'expression génétique des cellules souches normales et cancéreuses pourraient s'avérer d'une grande importance pour éviter ce type de récurrence.

D'autres applications dérivant de l'utilisation des cellules souches, au plan médical, sont envisageables, hormis les possibilités offertes dans le cadre des thérapies cellulaires ou l'étude des cellules cancéreuses.

Par exemple, les cellules souches peuvent révolutionner la médecine chimique traditionnelle. En effet, puisque les cellules souches embryonnaires peuvent se différencier *in vitro* en une grande variété de tissus spécialisés, cela devrait permettre de tester les effets de nombreux agents pharmaceutiques sur ces tissus, sans faire appel à des volontaires sains. La technique du transfert nucléaire somatique (voir ci-après) appliquée aux cellules souches pourrait s'avérer fort précieuse dans le but d'explorer les effets de médicaments sur des maladies d'origine génétique. Par exemple, il est difficile d'étudier la progression des maladies d'Alzheimer et de Parkinson, au niveau du tissu cérébral chez les patients en vie. Mais en utilisant les cellules d'un patient alzheimerien pour créer des lignées de cellules souches, après transfert

nucléaire somatique, il serait sans doute possible de suivre le développement de la maladie *in vitro* et de tester des agents chimiques susceptibles de régénérer les cellules nerveuses.

- *Risques*

Plusieurs difficultés dont certaines d'ordre biologique, d'autres d'ordre éthique ont, sinon atténué les espoirs placés dans la thérapie cellulaire (lesquels demeurent pourtant très vivaces) du moins montré que de nombreuses recherches complémentaires étaient nécessaires et qu'un consensus éthico-social s'imposait pour aller jusqu'au geste clinique.

En ce qui concerne les difficultés (ou les problèmes biologiques) à résoudre, l'une d'elles était que l'injection de progéniteurs cellulaires spécialisés chez un patient pouvait être accompagnée d'une dérive maligne : un faible pourcentage des cellules progénitrices humaines peuvent en effet comporter des cellules souches indifférenciées. Ce problème a fait l'objet de très nombreuses études. Il n'est donc pas question d'injecter à des patients, les cellules souches elles-mêmes mais bien plutôt les premiers éléments différenciés qui en émanent.

Une autre difficulté pouvait résider dans la transmission involontaire de virus pathogènes de l'animal à l'homme, une éventualité liée au fait que les cellules souches sont cultivées dans des milieux enrichis en produits d'origine animale (tels que des facteurs de croissance ou des sérums). D'où la nécessité de mettre au point des milieux de culture entièrement synthétiques, ce qui est désormais possible (cultures sur matrigel). Toutefois, ce que l'on pouvait surtout redouter, était le risque d'un rejet immunitaire des cellules injectées. Nous avons vu, en effet, que ce risque est élevé lorsque les cellules greffées et celles du receveur ne sont pas histocompatibles (cf. chapitre II.1.2.4 sur les antigènes HLA). Si cette difficulté peut être circonvenue chez la souris (dont sont dérivables un grand nombre de lignées histocompatibles), il n'en va pas tout à fait de même chez l'homme. Telle est la raison pour laquelle a été conçu un protocole expérimental supposé éviter cette difficulté majeure. Ce protocole repose sur le remplacement de l'équipement génétique des cellules souches embryonnaires par celui du futur receveur, de manière à assurer une compatibilité immunitaire parfaite. Cette technique de transfert nucléaire, à visée thérapeutique, comporte les étapes suivantes :

- *Transfert nucléaire somatique (clonage thérapeutique)*

- *Clonage reproductif chez l'animal*

Le noyau d'une cellule somatique prélevé à partir d'un tissu du futur receveur (par exemple du tissu épidermique) est transféré (électroporation)

au sein d'un ovocyte préalablement énucléé. L'ovocyte ainsi reconstitué, renfermant le noyau somatique diploïde, est cultivé *in vitro* jusqu'au stade de blastocyste. On procède ensuite comme pour un blastocyste normal : les cellules de la masse cellulaire interne servent à établir des lignées de cellules souches pluripotentes dont le phénotype est désormais compatible, au plan immunologique avec celui du « donneur-receveur ».

Ce procédé est parfois décrit sous le nom de « clonage à visée thérapeutique ». Sa seule justification, s'il était mis en pratique chez l'homme (ce qui n'est pas encore le cas), serait en effet de nature thérapeutique. Elle ne reposerait donc pas sur une intention de clonage d'un individu humain. Chez l'animal, tout au moins, si un ovocyte doté du noyau somatique d'un donneur est placé dans l'utérus d'une femelle porteuse, une descendance peut être obtenue qui présentera toutes les caractéristiques de ce donneur. Cette opération est baptisée « clonage reproductif ». Elle a été pratiquée pour la première fois avec succès chez les ovins : ce fut la naissance de la fameuse brebis Dolly obtenue par l'écossais Ian Wilmut (1996). D'autres clones animaux ont été produits chez les bovins avec un assez bon rendement dans l'équipe dirigée par Jean-Paul Renard. Pourtant l'opération est en soi assez délicate. De nombreux animaux obtenus par clonage reproductif présentent souvent des anomalies sérieuses et un faible pourcentage d'entre eux d'ailleurs parviennent au terme d'un développement complet.

Bien qu'aucun cas de clonage reproductif humain n'ait été signalé, le clonage reproductif étant sévèrement proscrit au plan international, le transfert nucléaire à visée thérapeutique humaine est également interdit dans divers pays, dont la France, et ce, en dépit du fait que l'embryon doté du noyau somatique n'est pas destiné à être implanté et qu'il ne s'agisse, en somme, que d'une étape intermédiaire à l'obtention de cellules souches embryonnaires immunocompatibles. Le Royaume-Uni, la Corée du Sud en ont d'ailleurs autorisé la pratique. Il convient de signaler que, jusqu'à présent (en tout cas à la période de l'été 2006) aucun transfert nucléaire visant la production de cellules souches embryonnaires humaines n'a rencontré de succès (en dépit de certaines publications qui ont été invalidées par la suite). Les scientifiques pensent, néanmoins, que si la technique du transfert nucléaire somatique pouvait être appliquée à l'obtention de cellules souches humaines, elle offrirait (entre autres possibilités), celle d'étudier *in vitro* le développement et la progression de certaines maladies spécifiques, les cellules souches ainsi obtenues possédant le génotype pathologique, c'est-à-dire renfermant les gènes responsables de certains désordres propres aux maladies considérées.

Le succès du clonage reproductif réalisé chez diverses espèces animales (J.-P. Renard) indique clairement que le noyau d'une cellule somatique

différenciée (par exemple en cellule de peau) peut subir, après transfert dans le contexte cytoplasmique ovocytaire, une reprogrammation totale, lui faisant acquérir à nouveau, le caractère de totipotentialité. Ce mécanisme de « reprogrammation » intéresse beaucoup les chercheurs (H. Blau). Il est sans doute très complexe et fait intervenir des modifications épigénétiques qui commencent seulement à être élucidées.

II.1.3.4. Aspects éthiques dans l'utilisation des cellules souches embryonnaires

L'utilisation thérapeutique potentielle des cellules souches embryonnaires humaines a soulevé, et continue de soulever de nombreuses questions d'ordre éthique. Elle a suscité force débats dans le monde et conduit à édicter des règlements et des lois. Il est hors du champ du présent ouvrage d'en retracer l'historique ou d'en analyser les divers aspects. Nous n'en rappelons ci-après que les implications principales.

L'une des critiques majeures est liée aux modalités d'obtention des cellules ES. En effet, l'établissement d'une culture de cellules hES est assorti de la destruction des blastocystes, c'est-à-dire de jeunes embryons ou pré-embryons humains. Or, si ces derniers étaient implantés dans l'utérus, comme c'est le cas dans la procréation médicalement assistée (PMA), ils pourraient engendrer un être humain complet. Certes, l'argument mis en avant par les biologistes et les médecins est que les blastocystes humains ainsi détruits dont on isole les cellules pluripotentes, le seraient en tout état de cause ! En effet, comme le stipule la loi française de bioéthique, les blastocystes congelés (souvent appelés « embryons surnuméraires ») doivent être éliminés après quelques années lorsqu'ils ne font plus l'objet d'un projet parental (loi de 1994). Pourtant cette destruction d'embryons, qu'elle soit associée ou non à la production de cellules hES, est considérée par ses opposants comme inacceptable en arguant du fait que l'embryon acquiert le statut d'être humain dès la fusion des gamètes. Telle est notamment la position de l'Église catholique et d'une partie de l'opinion. Pour d'autres religions, ce statut n'est attribuable qu'à un stade de développement situé bien au-delà de celui de « blastocyste ».

La loi française de bioéthique (2004), tout en maintenant l'interdiction de ce qu'elle définit comme une « recherche sur l'embryon » et, notamment, la production de cellules hES à partir d'embryons surnuméraires, a cependant admis des situations déroatoires. Certains laboratoires sont désormais autorisés à utiliser des lignées embryonnaires pour leurs recherches pour

autant que celles-ci soient à visée thérapeutique et qu'il s'agisse de lignées déjà établies importées de l'étranger¹⁷.

Récemment, des alternatives à la technique en usage dans l'obtention des cellules hES (à partir d'embryons humains surnuméraires) ont été proposées. Certains biologistes seraient parvenus à établir des lignées de type ES à partir d'embryons prélevés au stade « morula », ce qui n'empêche pas la poursuite d'un développement normal. Des tentatives similaires ont porté sur des blastocystes. D'autres auteurs ont réussi à isoler des cellules souches à partir du liquide amniotique humain (Dario Fanza, *Nature Biotech.*, 2006). Ces cellules, bien que ne manifestant pas le même degré de pluripotence que les cellules souches embryonnaires proprement dites issues de blastocystes, peuvent être facilement cultivées en laboratoire. Leur différenciation engendre une gamme assez étendue de tissus : musculaire, osseux, myocardique, neural... De surcroît, leur utilisation présenterait moins de risques en matière de carcinogénèse.

Enfin, tout récemment, deux équipes, l'une japonaise, l'autre américaine (Yamanaka *et al.*, Johnson *et al.*) ont réussi à convertir des cellules somatiques humaines, en l'occurrence des cellules de peau, en cellules embryonnaires, en leur transférant des gènes conférant des caractéristiques de ces dernières (en termes de capacités divisionnelles ou de propriétés antigéniques, etc.). Si cette reprogrammation expérimentale se confirme, ce sera là une avancée très importante.¹⁸

17. Quoiqu'il en soit, un récent rapport parlementaire français (2005) recommande de passer d'un régime dérogatoire à un régime d'autorisation des recherches sur les cellules souches embryonnaires (Fagniez P.L., 2006).

18. Depuis la soumission de ce texte pour impression, l'observation initiale de Yamanaka a été confirmée dans plusieurs laboratoires. La conversion, par transfert multigénique expérimental ; de cellules somatiques, en cellules présentant des caractères voisins de ceux des cellules souches (désormais désignées en anglais sous le nom de « induced pluripotent stem cells », IPS) peut être réalisée en utilisant des vecteurs rétroviraux en lentiviraux. Cette technique de reprogrammation permet notamment d'obtenir des banques de cellules pluripotentes présentant un phénotype correspondant à une pathologie définie (disease-specific IPS ; Dameron L., colloque stem cell biology, Paris, nov. 2008).

II.1.4. VIEILLISSEMENT – SÉNESCENCE ET MORT CELLULAIRES (APOPTOSE) – CANCERS

II.1.4.1. Vieillessement – Considérations générales

S'il est un phénomène aux répercussions des plus profondes sur l'avenir de notre espèce et le développement socio-économique mondial, c'est bien celui du vieillissement. Là se trouvent mis en jeu des processus, qui vont des manifestations physiologiques les plus diverses ou les plus spécifiques, concernant les cellules et tissus des organismes, les gènes, leurs mutations et leur polymorphisme, etc. à l'évolution démographique de la planète !

Les démographes nous rappellent, en effet, qu'aux alentours de 1750, dans les conditions sanitaires, alimentaires, etc. qui prévalaient alors en Europe, l'espérance de vie à la naissance n'était que de... 27 ans. Seule 21 % de la population atteignait l'âge de 60 ans. Les personnes qui réalisaient, ce qui était considéré, à l'époque, comme une performance physiologique, pouvaient espérer vivre encore 12 ans. On a établi que 200 ans plus tard (1950), 70 % des personnes atteignaient leur 60^e anniversaire avec une espérance de vie supplémentaire de 15 ans en moyenne. C'est ce dernier chiffre qui a progressé après 1950, l'espérance de vie masculine à 60 ans dépasse aujourd'hui 20 ans ; elle est sensiblement plus élevée, proche de 23 ans, chez les femmes. Elle dépassera 26 ans en 2050 (et 31 ans chez les femmes).

Comme le fait remarquer Henri Léridon, membre de l'INED¹⁹ et de l'Académie des sciences : « C'est donc l'augmentation de la longévité, une caractéristique individuelle, qui devient responsable de l'accélération du vieillessement de la population, caractéristique collective ». Il devient désormais courant de spéculer sur l'évolution du nombre des centenaires, voire des super centenaires (110 ans et plus). Par voie de conséquence, on s'interroge sur les limites de la vie humaine en imaginant, plus ou moins implicitement, toute forme d'intervention de nature à freiner les processus de sénescence, ou de dégénérescence, des tissus et organes, (par exemple par l'utilisation des cellules souches !). Comme l'évoque de façon imagée, mais réaliste, Henri Léridon : « Nos sociétés entrent dans une ère totalement inconnue, celle de la cohabitation de trois, quatre, voire cinq générations. Y sont-elles prêtes ? ».

Mais, face à cette situation, et à ces interrogations qui caractérisent d'une manière générale les pays du Nord – du moins la plupart d'entre eux – on ne peut qu'être interpellé par les graves décalages observés dans divers

19. INED : Institut national des études démographiques.

pays du Sud, notamment en Afrique sub-saharienne, ainsi que dans certaines régions de l'Amérique latine ou de l'Asie du Sud. Là, les facteurs conjugués des épidémies et des mauvaises conditions alimentaires, mais aussi certains génocides, freinent l'accroissement d'espérance de vie moyenne à la naissance, ou font même reculer celle-ci. L'influence des « maladies de la pauvreté », et plus particulièrement du SIDA, est souvent mentionnée à cet égard, même si des études épidémiologiques et démographiques récentes démontrent que dans certains pays, on peut observer une inversion dans les courbes traduisant une chute de la mortalité infantile qui serait apparemment liée à d'autres facteurs que le SIDA²⁰. Plus généralement en effet, hormis les conséquences de cette grave maladie, on doit incriminer le manque total d'hygiène, l'absence d'eau potable, la quasi-absence des centres de soins, ou les difficultés de transport. On sait d'ailleurs que les ravages causés par certaines maladies prévalentes dans l'hémisphère sud, quoique globalement et annuellement responsables de multiples décès précoces, ne mobilisent qu'assez peu l'opinion et ne suscitent que peu l'intervention internationale. Nous les avons déjà évoqués sous le nom de « maladies tropicales négligées ».

Pour revenir au cœur du problème du vieillissement lequel revêt de multiples aspects et pose de considérables défis à la société de demain, on est conduit à former des vœux pour que les « objectifs du millénaire », visant à réduire par exemple la mortalité des enfants de moins de 5 ans puissent se réaliser (ne fut-ce qu'en partie). On est confronté ici à deux démarches complémentaires :

a) interroger la science pour mieux comprendre les mécanismes du phénomène de vieillissement afin de pallier les inconvénients physiologiques qui lui sont inhérents en luttant notamment contre les maladies chroniques multifactorielles ;

b) se tourner vers les représentants du monde socio-économique et politique, soit qu'il s'agisse précisément d'aider la recherche et la médecine, soit qu'il s'agisse, indépendamment de ce caractère prémunitaire direct, d'améliorer la qualité de vie des personnes âgées (celles notamment du 4^e âge, souvent « dépendantes »).

Tout en étant conscients de ces différents angles d'étude du problème et, compte tenu du caractère particulier de l'ouvrage, nous nous focaliserons principalement sur ses aspects scientifiques :

1) Y a-t-il un déterminisme génétique de la longévité des êtres vivants et de l'homme en particulier ?

20. Miniforum 2006 du COPED (le Comité pour les pays en développement de l'Académie des sciences) consacré à l'accroissement de la mortalité infantile dans les pays en développement.

2) Que sait-on du vieillessement en termes de mécanismes moléculaires, de la mort cellulaire et du caractère « programmé » de ces phénomènes (apoptose) ?

3) Enfin, compte tenu des relations entre la probabilité accrue dans la survenue des cancers avec l'avancement en âge, nous évoquerons certaines des données concernant le lien entre génétique et cancer.

II.1.4.2. Génétique et longévité

Pendant longtemps a prévalu l'opinion selon laquelle le vieillissement (mais aussi la mort) n'avait presque « rien à voir » avec la génétique. Cela semblait justifié compte tenu de l'énorme importance, dans ces phénomènes, des facteurs de l'environnement (nutrition, exercice physique, stress, facteurs accidentels de toute nature). On était par ailleurs frappé par l'existence de variations considérables observables d'un individu à l'autre, au sein d'une espèce donnée, et plus encore d'une espèce à l'autre. Or, loin de minimiser la composante environnementale (conditions et influence de la qualité de vie sur la longévité) d'ailleurs évidente, la biologie et la médecine commencent à mettre en lumière un rôle très important, encore qu'insuffisamment compris, des facteurs génétiques.

Avant de s'intéresser aux relations entre gènes et longévité et entre génome et durée de vie moyenne de l'espèce, biologistes et médecins, depuis les travaux de Brown Séquard (1817-1894), de Voronov, et de bien d'autres après eux, avaient d'abord mis l'accent sur les facteurs endocrinologiques. Cet intérêt est loin d'être éteint. De nombreux travaux continuent à leur être consacrés, notamment en ce qui concerne le rôle et l'action de la DHEA²¹ (E.E. Baulieu), mais ce n'est que vers la fin des années 80 et, plus encore, dans le début de la décennie suivante que divers laboratoires ont mis en évidence des mutations génétiques susceptibles d'affecter, parfois de façon marquée, la longévité des individus à l'intérieur d'une espèce.

On peut, avec F. Schächter *et al.* (1993) considérer en fait trois catégories de gènes comme susceptibles d'intervenir dans la longévité : 1) ceux dont les effets sont globalement similaires chez diverses espèces parce qu'ils sont liés à des métabolismes essentiels ; 2) ceux qui jouent un rôle dans le maintien de l'intégrité cellulaire et la réparation des lésions ; 3) les gènes de susceptibilité ou de résistance vis-à-vis des maladies liées au vieillissement.

21. DHEA (la déhydroépiandrostérone) est une hormone naturellement produite par l'organisme. Ce composé est un dérivé du cholestérol : un stéroïde. Il est principalement synthétisé sous forme de sulfate : « DHEAS » par les glandes surrénales.

Mais bien d'autres classifications ont été proposées (cf. Pete Medavar, Georges Williams, George Martin, etc.). Celle de George Martin attire, d'ailleurs, l'attention sur le fait que, si certains allèles (état de la séquence d'un gène donné) peuvent avoir des effets bénéfiques, tôt ou tard, au cours du développement, les mêmes allèles peuvent être réprimés pour de « bonnes raisons », ou activés pour de mauvaises au cours du vieillissement, etc. Les conditions générales du développement jouent donc un rôle clé, elles peuvent moduler considérablement l'action de tel ou tel gène de longévité. Une fois de plus, on constate qu'un gène ne doit pas être pris isolément si l'on veut comprendre ses effets, mais dans le contexte global des effets qu'exercent les autres gènes et les polymorphismes individuels et, bien entendu, dans celui des facteurs de l'environnement.

La première mutation affectant la longévité d'un organisme animal, en l'occurrence le ver *C. elegans*, a été décrite en 1988 par Friedman et Joberson. Elle fut baptisée « age-1 » et on constata qu'elle était associée à un doublement de la durée de vie moyenne de ce nématode. D'autres mutations agissant sur la longévité furent décrites entre 1988 et 1995 (ex. : Kenyou *et al.* ; Larsen et coll. ; J.Z. Morai et coll. ; Kimura et coll.). Ces mutations entraînent un allongement de la durée de vie du ver nématode par un facteur compris entre 40 % et 100 %. Elles occasionnent également sa résistance à une série de stress liés à l'environnement (effets thermiques, ultra-violets, radicaux libres). Il a pu être établi, qu'en réalité, le produit du gène age-1, à savoir un élément enzymatique clé de la signalisation cellulaire (en l'occurrence la phosphatidyl-inositol-3-kinase), agit en activant un autre gène, daf-2, lequel code pour un récepteur de l'insuline. Sans doute cette observation est-elle à rapprocher d'une observation physiologique ancienne, selon laquelle une moindre consommation des sucres dans le régime ordinaire, a un effet bénéfique sur la longévité !

D'autres mutations observables chez le nématode ont des effets sur la durée de vie. C'est le cas de la mutation CLK dont on a observé un homologue chez la levure, à savoir CAT5/COQ7. Les mutations en cause affectent la régulation transcriptionnelle des gènes du métabolisme énergétique et, chez certains double-mutants daf-2-CLK, on a pu observer un accroissement considérable (jusqu'à 5 fois) de la durée de vie moyenne.

D'une manière générale (selon un résumé récent du docteur Richard A. Miller, de l'université du Michigan), les études relatives aux mutations de longévité chez le ver nématode, et plus récemment chez les drosophiles, ont montré que des changements « monogéniques » peuvent accroître la durée de vie moyenne de 100 % ou davantage. Ce qui est frappant, c'est que la plupart de ces gènes sont impliqués dans le métabolisme énergétique et, plus encore,

dans la résistance aux stress cellulaires, causés par la chaleur, les UV ou les radicaux libres (cf. le cas d'age-1) suggérant que la résistance au stress pourrait représenter une caractéristique commune de la longévité.

D'autres travaux ont été réalisés chez la souris. On a pu décrire ici 5 mutations monogéniques associées à un accroissement de la durée de vie moyenne de 30 % à 40 %. Or, dans 4 cas sur 5, on constate qu'elles entraînent une réduction significative des taux d'hormone de croissance et de son médiateur, le facteur IGF-1.

Toutes les mutations ainsi décrites correspondent à la première catégorie des gènes de longévité selon la classification de Schächter (cf. *supra*). D'autres types de mutations ont pu être observés qui pourraient se ranger dans la seconde catégorie comme étant liés à la maintenance des propriétés cellulaires. Ainsi en est-il, par exemple, du gène dont la mutation est à l'origine du syndrome de Hutchinson-Gilford, plus connu sous le nom de « progeria ». On sait que ce syndrome, observable chez l'homme, se traduit par l'apparition de toute une série de manifestations types d'un vieillissement précoce. Or le gène en cause est très voisin du gène Rec-Q codant pour une ADN-hélicase et l'on sait que sa perte de fonction entraîne un ralentissement dans la réplication de l'ADN, une accumulation générale de mutations et un raccourcissement accéléré des télomères.

La troisième catégorie de gènes pouvant intervenir dans la longévité, selon la classification de Schächter comprend divers « gènes de susceptibilité » aux maladies, ainsi que des polymorphismes génétiques. Nous en avons vu, divers exemples, préalablement, en relatant l'existence de mutations au sein de nombreux gènes HLA. Nous aurons l'occasion d'en discuter plus avant.

Si la génomique expérimentale de la longévité apporte déjà certains éclairages intéressants sur les mécanismes possibles selon lesquels les gènes peuvent contrôler le vieillissement (par exemple en agissant sur le degré de résistance aux stress d'origine physique ou physico-chimique (cf. *supra*)) d'une part, les données demeurent insuffisantes pour que se dégage une théorie générale du déterminisme génétique de la longévité, d'autre part, on ne comprend pas encore la nature de l'horloge génétique qui fait que le vieillissement est un phénomène biologique dont la survenue varie de façon considérable d'une espèce à l'autre. La comparaison de l'homme et de la souris est particulièrement éloquent à cet égard ; il s'agit de deux mammifères dont les génomes sont très apparentés : les nombres de gènes sont peu différents, leurs séquences sont également voisines. Or, chez l'homme, dans les pays jouissant de normes élevées en matière de santé, la durée de vie moyenne est d'environ

75 ans ; chez la souris de laboratoire elle n'est, selon des études récentes, que de 761 jours (un peu plus de 2 ans). D'où une différence d'un facteur 36. Comme le fait remarquer S. Edelstein (2005) « très probablement d'importantes différences dans un certain nombre de gènes cruciaux sont responsables de ce facteur 36, mais arriver à les identifier est un très gros problème ».

● *Relations entre génomique et longévité dans l'espèce humaine*

L'une des approches possibles est d'étudier la situation chez des individus dont la durée de vie est nettement supérieure à celle constatée en moyenne dans l'espèce considérée. Des recherches ont donc été conduites en vue d'identifier de possibles différences génétiques parmi les centenaires, voire les supracenténaires. Le centre d'étude du polymorphisme humain (CEPH) créé par le professeur Jean Dausset, en France, a mené à ce sujet diverses études. D'autres ont été réalisées, au Centre médical des diaconesses à l'hôpital Beth Israël, à l'hôpital des enfants malades de Boston, ainsi qu'à la Harvard Medical School, au Whitehead Institute et à l'université Rutgers... On s'y est intéressé aux génomes dans des fratries d'individus à longévité exceptionnelle (98 ans ou plus).

Par exemple, A.A. Puca et coll. (2001) ont observé par génotypage une liaison significative entre cette longévité exceptionnelle et un locus du chromosome 4 (D4S-1564). La nature du ou des gènes impliqué(s) n'est pas encore déterminée. En réalité d'autres recherches visant à établir s'il existe une relation entre génomique et longévité au sein de l'espèce humaine, ont été initiées dès 1990. Ainsi la fondation IPSEN a mené une étude importante, dénommée « Chronos », sur 800 centenaires et elle a révélé une fréquence plus grande de deux allèles particuliers ; il s'agissait du gène codant pour l'apolipoprotéine E et du gène ACE codant pour l'enzyme de conversion de l'angiotensine. La protéine APOE est un constituant des lipoprotéines. Elle intervient notamment dans le transport du cholestérol vers l'ensemble des tissus. Or on constate que chez les centenaires, le gène prédomine sous sa forme allélique E₂, allèle dont l'effet est hypcholestérolémiant (contrairement à l'allèle E₄ lequel est hypercholestérolémiant et représente, par exemple, la forme la plus fréquente chez les personnes atteintes d'Alzheimer).

Quant au gène ACE, il commande la synthèse de l'enzyme de conversion de l'angiotensine et de la bradikinine, deux substances ayant une forte action hypertensive. C'est le génotype homozygote D/D qui est le plus fréquent chez les centenaires, ce qui est quelque peu paradoxal puisque la forme allélique D du gène ACE est généralement associée au risque d'infarctus du myocarde !

Nous concluons ce sous-chapitre consacré aux gènes de longévité en évoquant les perspectives qui s'y rattachent. Comme l'ont fait remarquer

certaines physiologistes : « des projections de nature démographique ont montré qu'une intervention (hypothétique) qui pourrait ralentir le vieillissement des personnes, au même degré que les restrictions caloriques de routine ralentissent le vieillissement chez les rongeurs, aurait environ deux fois plus d'effet, en termes de durée de vie humaine en bonne santé, que ne pourrait avoir, le traitement complet de tous les cancers, des maladies cardiaques, des diabètes, ou des attaques cérébrales, envisagés en bloc ».

- *Sur les causes du vieillissement physiologique*

Même si des facteurs génétiques sont sûrement à prendre en compte dans ce qui détermine notre durée de vie, conjointement aux facteurs de l'environnement, qu'est-ce qui peut expliquer la sénescence inexorable des individus à l'intérieur d'une espèce donnée, ainsi que leur mort ? Quel est, en quelque sorte, le facteur biologique limitant ? Certes l'usure de maintes fonctions physiologiques (cérébrales, cardiaques, respiratoires, etc.), mais n'est-ce pas là faire reculer le problème ? Pourquoi, si l'on met à part les cancers purement accidentels ou des conditions d'environnement extrêmes, assiste-t-on à diverses formes de vieillissement physiologique ? Ne faut-il pas plutôt en chercher la cause dans l'intimité même des cellules ? Et, si l'on veut approfondir davantage la recherche des causes profondes du vieillissement biologique (dans les limites d'espérance de vie imposées à l'espèce), ne convient-il pas de se pencher également sur l'usure des macromolécules qu'elles abritent ?

Avant de parler de sénescence et de mort cellulaire (cf. *supra*), arrêtons-nous donc un instant sur les données relatives au vieillissement moléculaire.

- *Vieillesse moléculaire – Effets des radicaux libres*

À cet égard on sait, depuis les travaux anciens de D. Hartman (1956) et ceux plus récents (1998) de K. Beckman et B. Ames, que l'accumulation des radicaux libres peut entraîner différents dommages à un organisme au cours de son développement.

C'est le cas des radicaux à oxygène hautement réactif, tels les radicaux hydroxyles (OH) et les radiations non ionisantes qui accroissent la teneur en ce type de radicaux. Or on dispose de certains arguments scientifiques indiquant que les effets des radicaux libres interviennent, de manière négative, sur la longévité. Certains de ces arguments ont déjà été évoqués (cas de la mutation *age-1* qui diminue la sensibilité aux radiations chez *C. elegans* tout en augmentant la durée de vie). D'autres études ont porté sur la drosophile. Ainsi des drosophiles ayant reçu par transgénèse un gène codant pour une enzyme détruisant les radicaux libres, telle que la superoxyde dismutase ou la catalase, ont des durées de vie supérieures à celles des drosophiles non traitées.

De même, chez les mutants *age-1* du nématode observe-t-on un niveau élevé d'enzymes aux propriétés anti-oxydantes.

L'action des radicaux libres – hautement réactifs – sur les acides nucléiques, l'ADN en particulier, se traduit par des modifications chimiques susceptibles d'être éliminées par les enzymes de réparation. Mais ces « réparases » peuvent être affectées à leur tour et il peut en résulter un cancer.

Quant aux protéines, elles peuvent également subir de multiples dommages sous l'action des radicaux libres, tels que des processus de glycation ou d'oxydation. Ces protéines endommagées sont généralement « vacuolisées » puis détruites par un étonnant système de « voirie biologique », découvert assez récemment, le protéasome. Or, selon les travaux de Friguet (2000) et de I. Petropoulos, l'activité des protéasomes déclinerait au cours du vieillissement, ce qui entraînerait une accumulation de protéines endommagées, notamment au sein des kératinocytes (cellules précurseurs de la peau).

II.1.4.3. Sénescence cellulaire

On a longtemps pensé que les cellules susceptibles d'être cultivées *in vitro* jouissaient d'immortalité dans la mesure où le milieu de culture était renouvelé. On sait aujourd'hui qu'hormis les cellules provenant de ce que l'on appelle « des lignées établies », cellules dont le caryotype (nombre et état des chromosomes) n'est pas rigoureusement normal, et hormis les cellules cancéreuses, la plupart des cellules cultivables ont des capacités de divisions limitées, indépendamment des facteurs propres au milieu.

L'une des « horloges cellulaires » qui intervient dans cette limitation consiste dans le raccourcissement graduel des « télomères », qui se produit à chaque division. Les télomères présents, comme leur nom l'indique, à l'extrémité des chromosomes, sont formés par la répétition d'une courte séquence d'ADN, en général TTAGGG. Ces séquences sont disposées en « tandems » c'est-à-dire juxtaposées. Or, il est établi qu'à chaque nouvelle division cellulaire, les télomères se raccourcissent (environ 100 paires de bases en moins à chaque division). Lorsque la perte de bases atteint plusieurs milliers, la cellule cesse alors de se diviser et devient « sénescence ». Or il existe pourtant une enzyme, la télomérase, qui est capable de reconstituer, du moins partiellement, ces télomères en les rallongeant après qu'ils ont perdu certains de leurs motifs. Ces télomérases ne sont toutefois présentes que pendant la période embryonnaire, et dans les cellules sexuelles, mais absentes des cellules adultes. Elles sont également actives dans les cellules souches embryonnaires et dans les cellules cancéreuses, ce qui n'est pas sans

rapport avec la capacité que présentent ces cellules de se diviser *in vitro* de façon quasi illimitée.

Le raccourcissement télomérique jouerait donc un rôle anti-tumoral important et l'inhibition de l'activité de la télomérase peut constituer une stratégie anti-cancéreuse.

II.1.4.4. Apoptose – Mort cellulaire programmée

Comme on vient de le voir, nos cellules (hormis le cas des cellules cancéreuses ou embryonnaires) n'ont qu'un potentiel de divisions limité et peuvent devenir sénescentes lorsque ce potentiel est réduit ou réel : les cellules des vieillards se divisent d'ailleurs moins de fois que celles d'un adolescent (cf. revue de G. Auvoire, in *Biologie et Géologie*, APBG, n° 3, p. 485, 2003).

Mais il est un autre phénomène cellulaire, apparemment paradoxal, dont l'importance n'a été révélée qu'il y a quelques années et qui joue un rôle considérable dans le développement normal des êtres vivants ou, *a contrario*, dans l'apparition des cancers. Il s'agit du phénomène connu sous le nom d'apoptose, parfois appelé « mort ou suicide cellulaire programmé ».

Comme l'écrit Jean-Claude Ameisen (*in Annales de l'Institut Pasteur*, Actualités, Apoptose en pathologie humaine, 11 n°4, 2000), « Aujourd'hui nous savons que toutes nos cellules possèdent, durant toute leur existence, le pouvoir de s'autodétruire en quelques heures et leur survie dépend jour après jour de leur capacité à percevoir, dans l'environnement de notre corps, le langage des signaux émis par d'autres cellules qui seules leur permettent de réprimer le déclenchement de leur autodestruction. C'est à partir d'informations contenues dans nos gènes que nos cellules produisent les exécuteurs capables de précipiter leur fin et les protecteurs capables de neutraliser ces exécuteurs et, d'une manière contre-intuitive, un événement positif – la vie – semble procéder de la négation continue d'un événement négatif, l'autodestruction ».

Ce n'est que dans le début des années 70, que la véritable signification de l'apoptose a commencé à être perçue (J.J. Kerr *et al.*, 1972). Des phénomènes de mort cellulaire avaient néanmoins été décrits de longue date. En 1842, J. Vogt qui travaillait sur la métamorphose du têtard en crapaud en fait les premières descriptions ; deux décennies plus tard, c'est au tour d'A. Weissman de les observer pendant la métamorphose des insectes. En 1903, M. Ernst et A. Gluckmann établissent que la mort cellulaire est un phénomène général au cours de l'embryogénèse des vertébrés. On doit à J.-J. Kerr d'avoir distingué

deux types distincts de mort cellulaire, en tout cas au plan morphologique : il s'agit de la nécrose, mort accidentelle, rapide (donc non programmée) qui conduit à la désintégration explosive de la cellule et de l'apoptose. Celle-ci se traduit par une condensation cellulaire, la formation d'invaginations puis par une implosion et la phagocytose. Mais les manifestations cytologiques sont nombreuses. Pour ne citer que les plus marquantes (E. Jacotot *et al.*, 2000), on constate, au plan morphologique, une réduction du cytoplasme, une pycnose chromatinienne, une fragmentation du cytoplasme et du noyau en corps apoptotiques. Au plan biochimique, se produisent une chute du potentiel transmembranaire mitochondrial, une exposition vers l'extérieur de la cellule des molécules de phosphatidyl-sérines, une activation de protéases appelées « capases » (des aspartates protéases à cystéine), une décomposition de l'ADN en fragments de haut poids moléculaire ou en oligonucléotides... Après quoi la cellule, ainsi fortement endommagée, est phagocytée par les macrophages. Cette cascade d'événements qui débute surtout par la mise hors circuit des mitochondries, ce qui coupe, en quelque sorte, l'alimentation énergétique de la cellule, est rigoureusement programmée. Elle n'intervient, en effet, que dans des circonstances précises. Celles-ci correspondent soit à un acte de défense de l'organisme entier qui, par une stratégie dite de « la terre brûlée » éliminera ou tentera d'éliminer les cellules victimes d'attaques virales, ou cancéreuses (on peut alors assimiler l'apoptose de défense à une forme de suicide cellulaire), soit à un processus de développement morphologique ou physiologique naturel. L'apoptose joue alors ici, selon la belle formule de J.-C. Ameisen, un rôle indispensable dans la sculpture du vivant.

De nombreuses illustrations du rôle de l'apoptose, au cours du développement, découlent d'observations réalisées sur des espèces très variées, depuis le ver nématode jusqu'à l'homme.

Ainsi, chez le ver *Caenorhabditis elegans*, la forme adulte comprend très exactement 737 cellules (!), tandis que la forme larvaire en compte sensiblement plus, 924. Il y a donc une perte cellulaire par apoptose au cours de l'élaboration des principaux tissus adultes.

La métamorphose des insectes et des oiseaux s'accompagne également d'un remodelage important des diverses parties du corps, assorti d'une mort programmée des cellules de divers tissus présents dans les formes nymphales, larvaires, ou embryonnaires.

Chez l'homme, l'apoptose intervient également pour une grande part dans le développement de l'embryon et du fœtus. Un exemple connu est fourni par la morphogénèse de la main. En effet, jusqu'à un stade avancé du

développement embryonnaire, les doigts de la main ne sont pas séparés les uns des autres mais raccordés entre eux par une membrane. La main est donc « palmée » dans les débuts de sa formation et le tissu interdigital disparaît progressivement par apoptose (D. Duboule).

L'apoptose intervient clairement au cours du développement du système nerveux chez les vertébrés. Elle concerne aussi bien les cellules précurseurs de la zone germinative que les neurones matures post-mitotiques au moment où ils forment des contacts synaptiques. La mort cellulaire, à un stade très précoce du développement du cerveau (zone germinative), est une étape essentielle pour la morphogénèse et la différenciation d'un cerveau normal. En effet, si l'on invalide par recombinaison homologue chez la souris les gènes codant pour les protéases jouant un rôle majeur dans la mort cellulaire (caspases), on observe des troubles majeurs du développement du système nerveux caractérisés par une prolifération anarchique de neuroblastes-précurseurs et la formation d'une masse cérébrale informe, dénuée de ventricules.

La mort cellulaire intervient également à un stade ultime du développement cérébral, au niveau des neurones post-mitotiques pendant la synaptogénèse ; on pense aujourd'hui que ceux qui ne parviennent pas à établir de contacts avec leur cible dégèrent ! C'est le cas de 50 % des neurones dans de nombreuses régions du système nerveux. L'explication réside, selon toute vraisemblance, dans le fait que les neurones post-mitotiques entrent en apoptose s'ils ne reçoivent pas un signal rétrograde (des terminaisons synaptiques vers le corps cellulaire) sous la forme de facteurs diffusibles émis par les cellules qu'ils innervent. En résumé, on peut dire que l'apoptose est un processus majeur, indispensable au développement normal des tissus et organes chez les invertébrés et les vertébrés.

Symétriquement parlant, le déclenchement anormal du suicide cellulaire dont nous avons déjà souligné qu'il peut être la conséquence d'une infection virale, est probablement à l'origine de multiples pathologies, caractérisées par des pertes fonctionnelles marquantes, voire par la disparition pure et simple de certains tissus. Parmi ces pathologies figurent des maladies neurodégénératives chroniques telles que : la sclérose latérale amyotrophique, l'amyotrophie spinale, la maladie de Parkinson, la maladie d'Alzheimer, certaines rétinoopathies. Il en va de même pour les accidents vasculaires consécutifs à une thrombose artérielle du cerveau, à des complications neurologiques du Sida, à des hépatites fulgurantes ainsi qu'à des lésions résultant de réactions médicamenteuses ou produites par certaines toxines.

II.1.4.5. Apoptose et cancers

La problématique et l'approche thérapeutique du cancer sont indissociables d'une prise en compte des processus d'apoptose. Les relations entre développement des cellules cancéreuses et apoptose sont néanmoins complexes. Dans les conditions normales, si se produit une prolifération cellulaire indépendante des signaux externes de régulation et de l'inhibition de contact, etc. (comme c'est le cas pour des cellules « transformées »), les altérations génétiques qui y sont associées provoquent en principe « l'auto-destruction » de ces cellules. C'est pourquoi l'établissement et la progression des foyers cancéreux s'accompagnent d'une inhibition des processus de suicide cellulaire. C'est là du moins une des étapes intervenant de façon précoce dans la cancérisation.

Cette inhibition des processus apoptotiques, dans et au voisinage des cellules cancéreuses, est également un facteur important dans le développement des métastases. Dans ce processus d'essaimage, les cellules cancéreuses se trouvent en effet confrontées à des environnements tissulaires différents de celui qui les entourait initialement.

Les approches thérapeutiques par radiothérapie et chimiothérapie agissent en activant le suicide des cellules cancéreuses (et non pas comme on l'a pensé quelque temps, en les détruisant). C'est également ainsi qu'agissent des agents anti-cancéreux comme la bléomycine ou l'étoposide. Le mécanisme impliqué dans cette activation (ou réactivation) de la mort cellulaire pour lutter contre les tumeurs, n'est pas encore totalement élucidé. Plusieurs arguments sont en faveur d'une intervention du système Fas/Fas-L²².

D'une manière générale, il semble que les stratégies anticancéreuses s'orientent, soit vers la production de molécules susceptibles d'activer le suicide des cellules cancéreuses, molécules qui seraient spécifiques de chaque « famille » de cancers, soit au contraire vers le déclenchement de ce suicide chez les cellules normales « environnant » les tumeurs, cellules que les cancers « exploitent » pour survivre ! Parmi ces cellules « normales » figu-

22. Fas est un récepteur glycoprotéique transmembranaire (découvert en 1989) présent à la surface de nombreuses cellules, surtout à celle des thymocytes, des cellules T activées, des cellules hépatiques, cardiaques, rénales... Ce récepteur est codé par un gène unique (Chr. 10 chez l'homme). Fas transmet un signal de mort cellulaire, au cours de son interaction avec son ligand, FasL, un membre de la superfamille TNF (*Tumor necrotic factor*). Le produit du gène p53 (gène suppresseur de tumeur) activerait précisément la production de FasL à la surface de cellules tumorales, Fas+. Malheureusement, la plupart des cellules tumorales sont résistantes à la mort induite par les drogues anticancéreuses agissant par cette voie. Elles doivent peut-être leur résistance au fait qu'une cellule FasL+ serait capable de tuer les lymphocytes T infiltrant la tumeur. Des recherches sont en cours faisant appel à d'autres ligands que FasL, par exemple TNF- α .

rent les cellules de l'endothélium vasculaire en division. On sait en effet que nombre de tumeurs doivent leur croissance au fait qu'elles « détournent », littéralement parlant, la vascularisation (angiogénèse) à leur profit. L'une des stratégies anticancéreuses sur laquelle mise la pharmacologie moderne, réside précisément dans le blocage de cette néo-angiogénèse tumorale, en induisant la mort cellulaire des néo-vaisseaux alimentant la tumeur.

Récemment (Kimchi A., 2008), d'autres travaux ont été réalisés sur les mécanismes de l'apoptose en relation avec le cancer. C'est ainsi que de nombreux gènes d'apoptose ont été mis en évidence. C'est le cas des gènes de la famille DAP (*Death Associated Proteins*). Certains de ces gènes codent pour une enzyme de phosphorylation, la DAP kinase (DAP-K). Il s'agit d'une Serine-Thréonine Kinase, dépendante du couple Ca^{++} -calmoduline. Cette DAP-K peut induire la mort cellulaire en provoquant des altérations de la membrane cellulaire ou mitochondriale. De ce fait, DAP-K fonctionne comme un répresseur de tumeur. Elle exerce, en effet, son action antagoniste à deux stades de la progression tumorale ; soit à une phase précoce de la transformation oncogénique, soit, plus tardivement, lors de la phase métastatique. Il est d'ailleurs frappant de constater que l'examen de nombreuses tumeurs humaines a précisément révélé que l'expression du gène DAP correspondant était abolie, par suite, le plus souvent, d'une méthylation de son promoteur. Ces données ouvrent des voies à de nouvelles stratégies de lutte contre le cancer.

Un autre gène capable, après activation, d'induire l'apoptose de cellules cancéreuses a également été mis en évidence. Il s'agit du gène BID. Ce gène, une fois activé, entraîne un programme d'apoptose en causant, ici encore, une perméabilisation de la membrane mitochondriale.

Enfin, un mécanisme général d'apoptose, exploitable dans la lutte contre le cancer, a été mis en évidence récemment. On a observé, en effet, que lorsque certains récepteurs ne sont pas « occupés » par leur ligand, ils sont susceptibles d'induire une cascade de réactions qui conduisent à la mort cellulaire, ce qui n'est pas le cas en présence de leur ligand lorsque leur site d'attachement est occupé. Parmi eux figurent les récepteurs de netrine-1, tels que DCC et UNC-H. On a précisément observé que certains de ces récepteurs sont absents dans de nombreux cancers humains. Tel est le cas de DCC, dont le gène est délété dans 70 % des cancers colorectaux !

Les recherches visant à expliquer les mécanismes impliqués dans l'action des récepteurs « inoccupés », semblent indiquer qu'ils subiraient un premier clivage par des « caspases », ce qui libérerait un domaine peptidique préapoptotique, appelé ADD, lequel interagirait avec la DAP-Kinase (cf. *supra*) et bloquerait son effet suppresseur.

II.1.4.6. Mécanismes moléculaires de l'apoptose

Les mécanismes moléculaires intervenant dans l'apoptose, son déclenchement, son exécution ou son blocage, ont donné lieu à d'innombrables travaux. Ces mécanismes sont d'une extrême complexité due aux multiples interactions positives ou négatives des réactions en cause et des fonctionnements génétiques correspondants. Nous ne pouvons donc en donner ici qu'un très schématique aperçu. Le mécanisme global de l'apoptose est probablement apparu très tôt au cours de l'évolution. Il repose sur l'action d'une série de gènes, ou de produits de gènes, agissant soit comme des « effecteurs » que certains dénomment des « exécuteurs », soit comme des inhibiteurs (appelés aussi protecteurs) ou encore inhibiteurs-d'inhibiteurs !

Des études très poussées ont été menées sur le contrôle génétique de l'apoptose chez le ver nématode. Des gènes homologues ont été trouvés chez la drosophile, la souris et l'homme. Chez *C. elegans*, 4 gènes exercent un rôle prépondérant. Il s'agit de *ced-3*, *ced-4*, *ced-9* et *egl-1*. « *Ced-3* » code pour *cd-3*, une protéine-précurseur d'une « caspase » laquelle, rappelons-le, est une cystéine-protéase, responsable de la fragmentation de divers substrats protéiques nucléaires et cytoplasmiques, ce qui contribue à l'autodestruction cellulaire ; *ced-4* code pour un « activateur » de la protéine *cd-3*. En d'autres termes, il convertit la forme « précurseur », inactive, en une enzyme active. Cette activation requiert l'interaction directe de la protéine *cd-4*, avec *cd-3*. *Cd-9* qui est, ce que l'on pourrait appeler un « protecteur », empêche *cd-4* d'activer *cd-3* ! Quant à *egl-1*, il neutralise l'effet protecteur de *ced-9*, ce qui enclenche le processus d'autodestruction cellulaire.

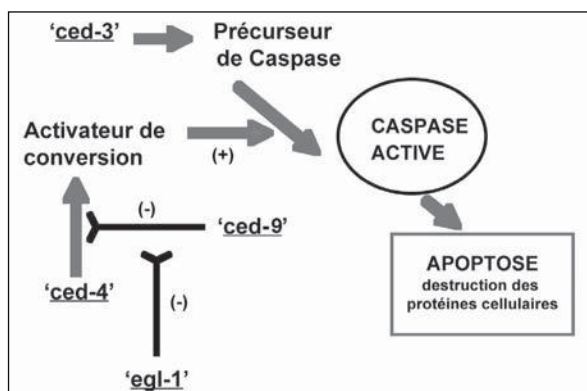


Fig. 6. Réseau génétique contrôlant l'équilibre entre survie et mort cellulaire (apoptose) chez le ver nématode *C. elegans*

Le gène « *ced-3* » code pour la synthèse d'un précurseur (inactif) d'une « caspase » (protéase à cystéine) ; « *ced-4* » fabrique un produit activant la conversion du précurseur en caspase activée, mais son action est bloquée par le gène « *ced-9* », lequel est maintenu « silencieux » par « *egl-1* ».

Un signal inactivant le gène « *egl-1* » peut déclencher une cascade génétique aboutissant à l'apoptose du ver nématode.

Ce surprenant système illustre le degré de précision avec lequel sont contrôlées la vie et la mort de chaque cellule !

Il existe par ailleurs 6 gènes qui interviennent, non pas sur le contrôle de l'équilibre entre vie et mort cellulaire, comme les précédents, mais sur la phagocytose des cellules en voie d'apoptose par les cellules voisines...

Dans l'espèce humaine, on connaît de très nombreux homologues des gènes de la catégorie « exécuteurs-protecteurs » notamment de *ced-3*, *ced-4* et *egl-1*. Les homologues du gène protecteur, *egl-1* de *Caenorhabditis*, constituent la « famille » Bcl-2 et BID. Il existe un homologue de l'activateur *cd-4*, appelé Apaf-1. On a décrit, en outre, des antagonistes du gène protecteur Bcl-2, tels que Bax, Bid... Lorsque Bax intervient, les facteurs produits par Bcl-2 et son antagoniste Bax forment un hétérodimère actif. Celui-ci a la capacité de créer des « pores » dans les membranes du reticulum endoplasmique et des mitochondries. L'altération de la membrane mitochondriale, résultant de la neutralisation de Bcl-2, déclenche la libération dans le cytosol, de protéines internes à la mitochondrie. Parmi celles-ci figurent le cytochrome C, le facteur AIF (ou *apoptosis inducing factor*) et Smac/Diablo. Une fois dans le cytosol, le cytochrome C ou Smac/Diablo activent les caspases.

Comme on peut le voir, les mitochondries occupent donc une place considérable dans la voie de signalisation apoptotique. Ajoutons à ce tableau déjà complexe que, très souvent, les caspases effectrices (types caspases 3, 6 et 7) sont souvent activées par des caspases dites « initiatrices » lesquelles sont à leur tour activées, du moins pour nombre d'entre elles, par un signal amont : l'interaction des récepteurs Fas ou du récepteur TNFR (*Tumor Necrosis Factor Receptor*) avec leurs ligands qui sont des cytokines.

Enfin, ces cascades d'amplification de signaux conduisant à l'apoptose cellulaire peuvent être elles-mêmes interrompues par divers facteurs, telles que les protéines IAP, (*inhibitor of apoptosis*), qui bloquent l'activité de certaines caspases et, pour « couronner le tout », les protéines IAP peuvent être inhibées elles-mêmes par le facteur Smac/Diablo !

On peut voir, à travers cet aperçu schématique, que le mécanisme dit de « l'affrontement des contraires », selon l'expression de J.-D. Vincent et J.-L. Ferry (2005), remarquablement conservé à travers les espèces, a dû constituer l'une des solutions principales au maintien de l'autonomie cellulaire, face aux influences variées de l'environnement, qu'il s'agisse de l'ensemble des facteurs physicochimiques externes ou de multiples interactions résultant du voisinage des autres cellules à l'intérieur des tissus.

II.1.4.7. Cancers

● *Données épidémiologiques*

Les cancers qui appartiennent à la catégorie des maladies multi-factorielles sont très répandus et leur prévalence demeure élevée, en dépit des multiples efforts de recherche, de prévention et de lutte qui sont déployés un peu partout dans le monde.

Leur apparition remonte à des périodes reculées de l'histoire (on en a relevé des signes évidents sur certaines momies égyptiennes). Ils constituent un très important facteur de mortalité dans le monde.

● *Cancers dans le monde et leur incidence grandissante dans les pays en développement*²³

Si, pendant longtemps, on a semblé négliger l'impact des cancers dans de nombreux pays de l'hémisphère sud et notamment dans les pays en développement, la cause en était l'attention portée, de façon prédominante, aux maladies infectieuses, responsables d'épidémies de toutes sortes, facteurs primordiaux dans la limitation de l'espérance de vie moyenne. On sait aujourd'hui que les pays en développement ne sont pas, eux non plus, à l'abri de ce fléau.

D'après les données de l'OMS et de l'Union internationale contre le Cancer (UICC) (données 2005), on compte dans le monde de l'ordre de 7 millions de nouveaux cas de cancers par an et de l'ordre de 11 millions de décès ! Le cancer tue plus de gens que le sida, la tuberculose et la malaria réunis et est responsable, par exemple, du quart des décès considérés globalement aux États-Unis.

Le pourcentage des décès attribuables au cancer est relativement plus faible dans les pays pauvres mais, en valeur absolue, du fait de l'importance numérique des populations du tiers-monde, on dénombre davantage de cancers et décès dus à cette maladie dans les pays en développement que dans les pays développés. D'ici à 2020, on anticipe que le tribut payé au cancer, en termes de mortalité, excédera 16 millions de cas dont 70 % dans les pays d'indice économique faible ou moyen. 45 % des cancers dans le monde apparaissent chez des personnes d'âge supérieur à 65 ans. Or le nombre de ces personnes âgées devrait s'accroître de 250 % d'ici à 2050...

23. Le lecteur est invité à consulter également l'excellent article de Joe B. Hardford, directeur du Bureau international au *National Cancer Institute* (NIH, USA) in *Changing lives*, Biovision Alexandria, 2006, Edit. Ismail Serageldin et Ehsan Masood avec Mohamed El Faham et Amani Massoud, p. 137 (2007).

Le changement dans le mode de vie des personnes, vivant dans les pays à revenu économique faible ou moyen, sera l'un des facteurs importants, à côté du vieillissement des populations, dans l'incidence élevée des cancers. Au nombre des changements en cause, il faut citer la consommation de tabac qui connaît un accroissement significatif dans les pays en développement, en particulier chez les femmes. Parmi les 8 types de cancers considérés comme les plus dangereux, 6 sont dus, en effet, à la consommation du tabac (notamment, comme chacun sait, le cancer du poumon).

Une autre cause de l'accroissement prévisible du nombre de cancers est liée à l'excès de poids et à l'obésité, plus généralement au mode de vie sédentaire (ex. 60 % des américains de plus de 20 ans souffrant d'un excès de poids ou d'obésité).

Or le monde en développement connaît lui aussi, depuis quelque temps, le syndrome d'obésité. Comme nous l'avons signalé à plusieurs reprises, des tranches de plus en plus importantes de populations des pays en développement, vivent en effet dans des zones sub-urbaines et du fait de mauvaises conditions d'équilibre alimentaire et de changements dans leur mode de vie, elles subissent aujourd'hui des maladies que l'on pensait exclusivement typiques des pays développés. L'obésité croissante est l'un de ces facteurs.

Des études épidémiologiques récentes concernant les maladies cancéreuses, dans les pays en développement, ont permis d'éclairer la situation notamment au Moyen-Orient, où l'incidence des cancers est élevée mais avec des typologies assez distinctes d'un pays à l'autre. Il est remarquable qu'en dépit des difficultés politiques et économiques de cette région du monde, des efforts concertés pour la recherche et la médecine anti-cancéreuse aient donné lieu à la création d'un « consortium scientifico-médical » qui reçoit d'ailleurs l'appui du *National Cancer Institute*.

Le continent africain mérite également une attention spéciale en ce qui concerne l'épidémiologie des maladies cancéreuses. « *Il y a un peu plus de cinquante ans, on considérait ce continent comme dénué de maladies cancéreuses, tant les maladies infectieuses et parasitaires dominaient la scène et entraînaient une telle mortalité précoce que les cancers, touchant majoritairement les adultes étaient ignorés.* » (Guy Blaudin de Thé, *in Sciences et pays en développement*, rapport RST n° 1, p. 103 (2006), EDP Sciences éditions.)

La vision du problème allait changer vers la fin des années 50, avec les observations désormais célèbres en cancérologie, d'un médecin chirurgien,

Denis Burkitt, qui œuvrait à Kampala, la capitale de l'Ouganda. Frappé par la fréquence d'apparition des lymphomes de l'enfant, il parvint à montrer que « l'environnement particulier » de cette région était un facteur important dans l'étiologie du cancer. Il devait être établi, en effet, par Burkitt et divers épidémiologistes que l'altitude, la température et l'humidité, jointes à une économie précaire, intervenaient conjointement dans la survenue de ce lymphome dû à l'action du virus EBV²⁴.

Dans la seconde moitié du xx^e siècle, l'espérance de vie s'étant accrue en Afrique, l'incidence des cancers s'est également accrue et les instances nationales et internationales ont commencé à prendre conscience du rôle croissant des cancers en santé publique.

Le centre international de recherche sur le cancer, situé à Lyon, a publié des données disponibles concernant la prévalence et la nature des cancers en Afrique. Il a été constaté que, si les pays anglophones (Nigeria, Kenya, Ouganda et certains pays du sud de l'Afrique) disposaient en général des registres décrivant les cancers survenus depuis des décennies, la situation en matière d'épidémiologie dans les pays d'Afrique francophone était loin d'être aussi satisfaisante. Dans ces pays, les données de caractère épidémiologique sont, le plus souvent, fournies par les laboratoires d'anatomie pathologique et elles se rapportent donc surtout aux tumeurs solides.

Cette situation s'observe notamment en Afrique intertropicale francophone. Elle montre une fréquence élevée de lymphomes et de sarcomes. Au Gabon, dominant particulièrement les cancers de la prostate, ainsi que du col utérin et du sein. L'Afrique tropicale est caractérisée par une fréquence élevée de lymphomes non hodgkiniens et surtout par une véritable « explosion » des sarcomes de Kaposi depuis la propagation fulgurante du VIH/SIDA.

Au Cameroun, le cancer du sein vient en premier, suivi par les lymphomes et les sarcomes de Kaposi.

Dans l'île de Madagascar prédominent les cancers de la cavité buccale (utilisation du bethel...) et les cancers colorectaux, avec des prévalences de mélanomes et les mêmes types de cancer qu'en Afrique de l'Est.

Les pays de l'Afrique anglophone connaissent une prépondérance des sarcomes de Kaposi (50 % des tumeurs de l'adulte à l'hôpital de Kampala).

24. EBV : Epstein-Barr virus.

Selon les études de de Thé *et al.*, le VIH joue un rôle déterminant en favorisant le potentiel oncogène d'un virus latent, le HHV-8, sans toutefois le réactiver, dans 60 % des cas.

Enfin, dans les pays du Maghreb, le tabagisme favorise les cancers du larynx, du pharynx et du poumon. On y dénote également (comme en Chine) une fréquence élevée d'un type particulier de cancers, ceux du rhinopharynx (cancers très rares dans d'autres régions). Ce cancer est dû au virus EB (Epstein-Barr), dont l'action est potentialisée par certains aliments et par des facteurs génétiques.

Comme on peut le constater à travers ces données, les cancers représentent une menace grandissante pour la santé publique en Afrique, avec certaines formes identiques à celles observables dans d'autres régions du monde, mais également des formes particulières, ou en tout cas rencontrées de façon quasi explosive sur le continent africain (tels, nous l'avons vu, les sarcomes de Kaposi, ou les lymphomes de Burkitt).

Il est essentiel, pour aider ces populations, d'adapter les protocoles chimiothérapeutiques en vue d'une plus grande efficacité, mais avec des risques faibles d'effets introgènes. C'est notamment l'objectif que vise le Réseau international dénommé INCTR (*International Network for Cancer Treatment and Research*) dont le siège est à l'Institut Pasteur de Bruxelles.

● *Biologie du cancer – oncogènes – gènes suppresseurs – système de réparation*

Les cancers pouvant se développer au sein de la plupart des tissus ou organes des vertébrés, leur nature, comme leurs causes peuvent être extrêmement variées. Chacun sait d'ailleurs que les facteurs environnementaux, tout autant que le terrain génétique des individus, sont à prendre en compte dans leur apparition. L'incidence de telle ou telle famille de cancers varie donc en fonction de la répartition géographique des populations, de leur habitat, de leur alimentation, etc. et, sans doute aussi, de leur polymorphisme génétique.

Il serait illusoire de tenter une mise au point, tant soit peu complète sur les innombrables travaux consacrés à l'épidémiologie, à la physiopathologie, à la génétique et à la thérapeutique des cancers. Seuls pourront être apportés ici quelques éclairages dont certains sont récents. Certains aspects du problème, notamment ceux concernant « les relations cancer-apoptose », ont été discutés dans les sections précédentes.

Dire que le cancer est un phénomène « multi-étapes », c'est dire qu'il est lié à une succession d'événements génétiques, cellulaires et d'origine environnementale qui, se déroulant au sein d'une cellule donnée, la rendent maligne.

L'histoire des idées relatives au cancer ne peut être retracée ici : théories biochimiques (anomalies de la glycolyse (Warburg)), théories chimiques (cf. travaux sur les substances cancérigènes, etc.), théories mutationnelles, hypothèses liées à la perte de communication cellulaire. Mais il est clair qu'avec les progrès de la biologie moléculaire, du génie génétique et, plus récemment, de la génomique, de l'immunologie cellulaire ainsi qu'avec une meilleure connaissance des cellules souches et des mécanismes de l'apoptose, on possède une vue assez claire des mécanismes moléculaires et cellulaires qui sont en jeu dans la transformation maligne, dans la croissance tumorale et l'apparition des métastases. La découverte des oncogènes, dans la fin des années 70, a constitué le premier pas sérieux vers l'étude génétique moderne du cancer. On savait, notamment à la lumière des travaux concernant la transformation néoplasique chez la souris, par des virus tels SV40, Polyoma, etc., que ces virus comportent dans leur génome des gènes, tel le gène codant pour l'antigène T, qui sont capables d'induire une telle transformation. En 1976, Stehelin, Bishop et Warmus, à la suite de recherches sur le sarcome de Rous – tumeur se développant chez l'oiseau – ont établi que les « gènes de cancer », portés par des virus transformants (comme le gène « Sarc » (Src) du virus responsable de ce sarcome), ont leur contre partie dans la cellule elle-même sous une forme allélique, C-src. D'où la généralisation concernant l'existence, dans toute cellule normale, d'une famille de déterminants génétiques, appelés proto-oncogènes (ou oncogènes cellulaires) qui jouent un rôle capital dans la signalisation des événements exogènes vers le noyau de la cellule, permettant à celle-ci de se diviser en harmonie avec son environnement. Ce sont ces proto-oncogènes qui règlent en quelque sorte la « vie sociale » de la cellule par rapport à son milieu et font que, lorsque se forme un tissu, les cellules entrant en contact, les unes avec les autres, arrêtent de se diviser (inhibition de contact). On sait aujourd'hui que la cellule eucaryotique « normale » comporte, en son sein, un « réseau » d'une quarantaine de gènes, ou plus, intervenant dans ce type de régulation. Les premiers représentants en ont été caractérisés chez l'oiseau (Src, myb, myc, erb, etc.). Ces proto-oncogènes codent pour des protéines diverses qui fonctionnent en interaction les unes avec les autres et avec le milieu, assurant ainsi un contrôle naturel de la division sous l'influence des facteurs externes (physiques, chimiques, biologiques). On rencontre donc parmi les produits de ces gènes, des enzymes (telles que des kinases), des facteurs de transcription, des récepteurs membranaires... Tout ce réseau génétique fonctionne en harmonie.

En revanche, si certains de ces proto-oncogènes deviennent le siège de mutations, que celles-ci soient spontanées ou causées par des événements extérieurs (irradiation) ou encore provoquées par des virus, on peut assister alors à l'apparition de cancers dont la nature dépendra, le plus souvent, de celle du proto-oncogène affecté. Le proto-oncogène muté devient un oncogène : son expression échappe désormais aux signaux régulateurs émis par les autres gènes du réseau et aux signaux environnants. La cellule qui est le siège de cette mutation, a désormais acquis la potentialité de se diviser de façon anarchique.

● Gènes sentinelles

Pour autant, la modification d'un proto-oncogène ne provoque que rarement, à elle seule, l'apparition de l'état cancéreux. D'autres mutations doivent survenir à d'autres niveaux de la physiologie cellulaire. Il existe, en effet, des systèmes protecteurs, génétiquement déterminés. En 1985 a en effet été découverte une catégorie de déterminants géniques qui agit comme un « premier niveau de défense » vis-à-vis des effets dé-régulateurs des oncogènes activés ; il s'agit des anti-oncogènes, encore appelés gènes suppresseurs dont les plus connus sont : Rb (pour rétinoblastomes), VHL, APC, et surtout, p53 dont les modifications génétiques sont fréquemment associées aux cancers humains. Les mutations de ce gène « sentinelle », qui peuvent être spontanées ou induites par les UV, le tabac, etc. sont observées dans plus des 2/3 des cancers du colon, dans la moitié des carcinomes pulmonaires et elles accompagnent une cinquantaine de cancers de types variés. On a pu établir que lorsque l'ADN subit des lésions sous l'effet de radiations ionisantes, ou à la faveur d'erreurs de réplication, le gène p53 était activé. Il déclenche alors la mobilisation d'autres gènes (GADD₄₅, MDM₂, P21-WAF1/CIP-1 et cyclin G). P21 WAF1/CIP-1 est un inhibiteur du cycle cellulaire, lors de la transition G → S. L'arrêt du cycle cellulaire de la cellule endommagée évite que se propage une lésion ce qui pourrait avoir des conséquences néfastes pour le tissu ou l'organisme entier. La cellule endommagée peut alors entrer en apoptose.

On connaît des gènes « sentinelles » propres à différents tissus cibles, ex. : APC dans le cas des cancers colorectaux, Rb pour les rétinoblastomes, VHL dans le cas des cancers de cellules rénales, etc.

À côté des gènes-sentinelles (en anglais *gate-keepers*) qui agissent en bloquant la division ou en déclenchant l'apoptose des cellules transformées, suite à la mutation de proto-oncogènes, existent d'autres gènes de résistance, les « care-takers », sorte de gènes codant pour des systèmes de réparation de l'ADN.

Avant de nous étendre quelque peu sur leur mode d'action, nous évoquerons quelques travaux récents se rapportant au gène p53 et aux gènes apparentés codant pour des isoformes.

Certains auteurs ont fait remarquer que les mutations du gène p53 qui sont en général des mutations de type mis-sense, apparaissent à des phases relativement tardives de la progression tumorale. Elles ne sauraient donc être responsables de l'inactivation du système de surveillance aux stades précoces de la transformation maligne. Or, différentes variantes de la protéine p53 pourraient remplir cet office. Il pourrait s'agir d'autres produits des gènes de la famille apparentée à p53, tels que p63 ou p73, ou de protéines formées par épissage alternatif du transcrit primaire du gène p53 lui-même. On connaît par exemple un produit d'épissage tel que p53¹² qui inclut une copie de l'intron-2 lequel comprend un codon « stop ». Le produit de p53¹² constitue donc une version tronquée de la protéine p53, dénommée $\Delta Np53/p53$. Cette protéine tronquée, ainsi que les isoformes produits par les gènes p63 et p73, agissent comme des facteurs dominants négatifs qui contrecarrent, par conséquent, l'action de la protéine p53 sauvage, aux stades précoces de la transformation maligne.

On a également mis en lumière des polymorphismes, (type SNP), dans le gène P53. Par exemple PIN-3 est un polymorphisme affectant l'intron n° 3. Son effet se traduit par une modification du rapport $\Delta Np53/p53$, en faveur de la forme tronquée ce qui, nous l'avons vu, accroît la susceptibilité aux cancers.

● *Systèmes de réparation et cancers*

L'ADN cellulaire, présent dans le noyau et dans les mitochondries des cellules eucaryotiques, contrairement à une idée reçue, est une macromolécule continuellement soumise à des modifications chimiques, dont certaines sont nécessaires pour réagir à des changements de l'environnement (et comme moteurs de l'évolution) mais qui se comportent, le plus souvent, comme des agressions. Celles-ci peuvent être d'origine endogène, c'est-à-dire liées au métabolisme (exemple : substances à oxygène actif produites au cours de la respiration ; intermédiaires de méthylation de l'ADN comme la S-adénosyl-méthionine), ou exogène comme les radiations, le soleil, les UV, etc.

Si l'on se limite aux lésions endogènes qui semblent les plus fréquentes, elles appartiennent à plusieurs catégories : bases endommagées, sites nucléotidiques dits abasiques (ayant perdu la composante basique, mais encore inclus dans des liaisons phosphodiester), cassures se produisant au niveau d'un seul brin ou de deux, etc. Ces lésions peuvent être à l'origine de multiples

cancers et c'est là qu'interviennent les systèmes de réparation codés par des gènes du type *care-takers*.

Les lésions spontanées les plus fréquentes sont les cassures du squelette phosphodiester (cassures « *simple brin* », ou CSB). Viennent ensuite les pertes de purines ou de pyrimidines (sites dits, AP) et les produits d'oxydation (8-oxoG et thymine glycol). Dans les cellules humaines, le nombre de lésions est estimé à 3 000 par cellules et par heure. Plusieurs dizaines de milliers de nucléotides sont ainsi modifiés, de manière constante dans le génome humain. La voie réparatrice prépondérante comporte, très souvent, l'excision de la base anormale (base excision ou BER) même si d'autres modes de réparation sont connus.

Les processus de réparation par BER font intervenir plusieurs types d'enzymes de reconnaissance de la base endommagée (ADN glycosylases, dont il existe plus d'une dizaine chez l'homme). La réparation comporte une coupure de la liaison N-glycosidique (entre la base et le déoxyribose), la coupure du lien phosphate en amont par une endonucléase, (en amont du site AP), et enfin la reconstitution complète du nucléotide par une polymérase β . Par ailleurs, une protéine XRCC favorise la coordination de ces divers événements.

On pense aujourd'hui que l'altération des gènes de la voie réparatrice BER (notamment impliquée dans les lésions endogènes de l'ADN) contribuerait à créer un phénotype mutateur qui accélérerait la cancérogénèse.

Parmi les ADN glycosylases dont les mutations seraient ici les plus importantes, citons les glycosylases, UNG, MYH et OGG₁. Des analyses épidémiologiques chez l'homme montrent que l'inactivation de ces ADN glycosylases peut entraîner une prédisposition aux pathologies cancéreuses (il en va de même chez la souris (S. Boîteux *et al.*, 2006).

● *Facteurs épigénétiques*²⁵

En dehors des effets proprement génétiques intervenant dans l'acquisition de l'état pré-cancéreux, par exemple par mutation, ou défaut de réparation, la cancérologie moderne a également mis en lumière l'importance des facteurs épigénétiques. Ces facteurs n'interviennent pas en altérant la séquence ADN au niveau d'un ou plusieurs sites géniques particuliers, mais en causant d'autres types de modifications, transmissibles héréditairement. Il s'agit, par exemple, de modifications dans la méthylation des îlots CpG. Cette

25. Voir également le chapitre consacré à l'épigénétique.

courte séquence est généralement située au niveau du démarrage de l'activité transcriptionnelle du gène. Lorsque la cytosine est méthylée, le gène voisin est inactif : or, dans les cancers colo-rectaux, on observe une hyperméthylation locale de certaines séquences CpG (De Murzo *et al.* 1999), idem pour d'autres types de cancers (Kuss *et al.* 1997, Jones et David, 1999). La méthylation des îlots CpG aurait pour effet d'annihiler l'action des gènes suppresseurs (ex. : Rb, VHL ou p^{16ink-4a}).

L'importance des changements épigénétiques dans le développement cancéreux a pu être clairement établie au cours d'expériences montrant que, si l'on réduit le niveau général de méthylation de l'ADN, jusqu'à 10 % de son taux normal, en introduisant un gène allèle hypomorphe de l'ADN méthyltransférase (gène *Dormt*) cela suffisait à déclencher l'apparition de cancers chez la souris (Gaudet *et al.*, 2003), sans doute du fait de l'instabilité chromosomique ainsi déclenchée. Des études portant sur des cancers colo-rectaux humains ont également montré que 30 à 40 % des patients manifestent une perte de l'imprégnation parentale (*imprinting*) au niveau du gène IFG₂, consécutive à la perte de méthylation de l'allèle maternel IFG₂, à la fois au sein de la tumeur elle-même et dans les cellules de la muqueuse environnante.

De très nombreux travaux ont permis d'établir que les changements épigénétiques accompagnant l'état cancéreux incluaient non seulement une hyperméthylation des îlots CpG, au voisinage des gènes suppresseurs de tumeur (tel que p53) – ce qui abolit la barrière représentée par ces gènes – mais, à l'inverse, une hypométhylation d'îlots CpG au niveau de gènes ayant un effet promoteur (*tumor promoting genes*) (Feinberg and Vogelstein, 1983 ; Kaneda *et al.*, 2004). Parmi ces gènes « promoteurs de cancers », citons les gènes BCL₂, MDR₁, HOX₁₁, Myc, c-Ha-Ras, c-Fos, α -FETO-PROTEIN, MASPIN, MELIS, EGRI, SYNUCLEIN GAMMA...

● *Contrôle épigénétique de la différenciation de cancers chez les cellules souches*

Les tumeurs cancéreuses, tout comme les tissus normaux, comportent des cellules particulières, capables d'auto-renouvellement (Levan and Hauschka, 1953 ; Makiro and Kano, 1953 ; Sachs and Galily, 1955 ; Hayashi *et al.*, 1974 ; Kleinsmith and Pierre, 1964 ; Bonnet and Dick, 1997 ; Kondo *et al.*, 2004). L'existence de cellules souches présentes dans les tumeurs a, bien sûr, de nombreuses implications thérapeutiques : on comprend que l'éradication complète de ces cellules soit nécessaire pour éviter les récives. Par ailleurs, puisque des cellules normales différenciées peuvent devenir cancéreuses (ex. : astrocytes), les cellules souches présentes dans les cancers peuvent provenir

de cellules souches normales et de cellules plus différenciées, reprogrammées en cellules souches.

Bien que, dans la plupart des cas, les changements génétiques ou épigénétiques qui sont associés au cancer se caractérisent par une croissance et une différenciation aberrantes, on a pu montrer que les cellules cancéreuses ne perdent pas toujours leur capacité à se différencier en des cellules matures. De tels retours vers l'état différencié normal peuvent être provoqués par l'addition de cytokines ou d'agents de différenciation tels que la dexaméthasone, l'acide rétinoïque ou le cytosine-arabinoside. Cette « redifférenciation » est concomitante d'une re-programmation épigénétique. Elle peut être déclenchée par des inhibiteurs, des ADN-méthyltransférases ou des histones déacétylases (Cameron *et al.*, 1999 ; Wang *et al.*, 1999 ; Marks *et al.*, 2001 ; Muester *et al.*, 2001) et constituer une piste pour la thérapie du cancer.

Comme les cellules souches embryonnaires ou adultes de type normal, les cellules souches de cancers sont douées de plasticité dans leur potentiel de différenciation. À titre d'exemple, on sait depuis les premières recherches de Kleinschmith et Pierce 1964, et de Martin et Evans 1975, que les cellules de carcinomes embryonnaires (*Embryonyl carcinoma cells*, ou EC) dérivées des tératocarcinomes testiculaires, peuvent être induites à se différencier en une pluralité de cellules appartenant aux trois feuilletts embryonnaires (comme des cellules ES), ainsi qu'en neurones ou en cellules de muscles squelettiques ou cardiaques. Ainsi, les cellules souches cancéreuses des leucémies peuvent se différencier en une variété de types cellulaires normaux (sang, cerveau, colon et foie respectivement). Des études conduites en ayant recours à la technique des puces à ADN (*gene profiling technique*), études portant sur une lignée de cellules de leucémie myéloïde, ont montré qu'outre les gènes qui sont normalement et préférentiellement exprimés dans les tissus hématopoïétiques, cette lignée de leucémie myéloïde exprimait à haut niveau, plus de 120 gènes également actifs de façon préférentielle dans des tissus non hématopoïétiques, tels que ceux de neurones, muscles, foie et testicules, ce qui montre qu'elle est potentiellement capable d'un retour vers des phénotypes cellulaires variés.

Plus généralement parlant, de nombreux travaux, impossibles à décrire dans cette section (cf. revue par J. Lotem and L. Sachs, *Oncogene*, 25, 7663, 2006), indiquent que les cellules souches cancéreuses provenant non seulement de lignées cellulaires mais aussi de cancers primaires, manifestent une accessibilité transcriptionnelle de la chromatine vis-à-vis de gènes normalement exprimés dans des tissus autres que ceux à l'origine de ces cancers. On peut en conclure que, dans des conditions appropriées, les cellules cancéreuses présentent une plasticité de différenciation, beaucoup plus étendue

que ce qui avait été anticipé. Il est intéressant de mentionner, à cet égard, que le transfert de noyaux provenant de médulloblastomes (Li *et al.*, 2003), de leucémies, de lymphomes, de carcinomes mammaires, ou de mélanomes (Hocheddingler *et al.*, 2004) dans des ovocytes énucléés de souris, donne lieu à un développement embryonnaire apparemment normal, du moins jusqu'au stade pré-implantatoire.

Enfin, il a été établi que l'expression hétérologue de gènes, autres que ceux activés dans le tissu d'origine du cancer – qu'il s'agisse de gènes propres aux lignées germinales (*cancer/testis genes* ou CT genes) mais aussi de gènes spécifiques de tissus somatiques – peut contribuer au développement du cancer proprement dit, en stimulant sa viabilité, sa croissance ou son potentiel métastatique. Souvent la surexpression de ces gènes caractéristiques de tissus, autres que le tissu originel du cancer, confère des propriétés anti-apoptotiques, augmentant la capacité de prolifération cellulaire ou l'instabilité chromosomique.

Ces propriétés d'expression somatique hétérologue par les cellules de cancers peuvent également constituer des compléments intéressants au diagnostic. C'est ainsi qu'en utilisant le système des sondes sur support solide (*micro-array*), on a pu établir que, parmi les patients atteints de leucémies pédiatriques, ceux qui présentent une leucémie lymphoïde (ALL) exprimaient 3 fois plus de gènes non-hématopoïétiques, (notamment des gènes de tissus neuronaux et testiculaires), que ceux souffrant de leucémie myéloïde (AML). Or il a été constaté que, chez les premiers, l'incidence d'implication leucémique dans le système nerveux central était précisément plus élevée que chez les seconds.

Rien d'étonnant, dès lors, à ce que de nombreux travaux de recherche en cancérologie moderne se focalisent désormais sur les propriétés et notamment sur la plasticité épigénétique des cellules souches associées aux divers types de cancers.

II.2. AGRICULTURE – NUTRITION – NOURRIR LES HOMMES – LES DÉFIS DE LA MALNUTRITION – PLANTES TRANSGÉNIQUES (DONNÉES, ESPOIRS ET CRAINTES)

II.2.1. NOURRIR LA COMMUNAUTÉ DES HOMMES – LES DONNÉES DU PROBLÈME ET LES DÉFIS À RELEVER

De tout temps, le problème de l'accès à la nourriture au sein des communautés diverses, quelles que soient leurs tailles (familles, pays ou continents) a été une préoccupation majeure de l'humanité. Les historiens ont bien documenté, par exemple, comment les mauvaises récoltes furent l'un des éléments déclencheurs de la Révolution française de 1789 (Leroy-Ladurie...). On sait le rôle clé que joua la maladie de la pomme de terre dans l'immigration massive des populations irlandaises vers les États-Unis. Les exemples de dépendance entre développements politiques et culturels des nations et disponibilité alimentaire sont légions... Au XVIII^e siècle apparaissent les premières théories mettant en lumière l'effet régulateur des ressources alimentaires disponibles sur la taille optimale des populations (Malthus...). Toutefois ce n'est qu'au milieu du XX^e siècle que les économistes ont commencé véritablement à attirer l'attention sur l'accroissement démographique accéléré de la planète, en dépit des pertes humaines liées aux grands conflits internationaux, et sur ses répercussions à moyen et long termes, à l'échelle géopolitique mais aussi environnementale, sanitaire et nutritionnelle. Le monde a également pris conscience qu'après la disparition des empires coloniaux, la question des équilibres économiques entre les pays du Sud et les pays du Nord allait devenir une préoccupation grandissante. Sont alors apparus les qualificatifs illustrant les degrés de développement des pays selon une échelle allant des pays les plus

pauvres (pays les moins avancés et pays en développement) aux pays riches ou « développés » en passant, si l'on peut dire, par les pays dits « émergents », sans préjuger d'ailleurs des grandes disparités socio-économiques pouvant concerner les communautés ou ethnies à l'intérieur même de chacun de ces pays. Devant l'ampleur des déséquilibres économiques – souvent facteurs d'instabilité politique et de conflits locaux – devant l'exploitation souvent irraisonnée des ressources naturelles (dont beaucoup d'entre elles sont localisées au Sud), par l'entremise des grandes multinationales, face aux perturbations concernant l'environnement géo-climatique, et la biodiversité, ou encore, face aux menaces sur la disponibilité de l'eau potable, on a assisté à une prise de conscience quant à la nécessité d'une meilleure prévision et d'une meilleure gestion du patrimoine commun et des ressources de toute nature au niveau international, voire planétaire. Des organisations internationales à vocation spécialisée (ex. OMS, FAO...) ou d'inspiration générale, culturelle et économique-politique (ONU, UNESCO) ont été créées, pour la plupart d'entre elles, dans la deuxième moitié du xx^e siècle, ainsi qu'une myriade d'ONG, caractérisées par un souci d'intervention directe sur le terrain. Les pays les plus avancés de la planète (économiquement parlant) se sont réunis en « sommets » destinés à ouvrir de concert, les grands chantiers internationaux et à arrêter des décisions adéquates pour y intervenir. Le concept de développement durable (attribué à la présidente de l'OMS, Madame Gro-Brutland) est apparu dans les années 1980 avec le souci d'une meilleure gestion des biens et patrimoines mondiaux (« *common goods* ») au bénéfice de tous, y compris celui des générations futures. Depuis le Sommet de Rio sur l'environnement (1992) se sont succédé ainsi nombre de Sommets internationaux afin d'exprimer les grandes questions et préoccupations décennales à des échelles continentales, ou planétaires. Parmi les Sommets associés au développement durable (*sustainable development*), celui de Johannesburg (*World Summit on sustainable development*, ou WSSD) a revêtu une dimension particulièrement symbolique, par sa coïncidence chronologique avec le début du XXI^e siècle. Il a dégagé une dizaine de grands objectifs destinés à assurer un meilleur équilibre économique, à réduire la grande pauvreté, à améliorer la condition féminine, l'éducation de masse mais aussi à remédier aux grandes atteintes à l'environnement. Parmi les composantes de ce vaste effort concerté figurent, à l'évidence, la lutte contre les maladies infectieuses et la couverture des besoins alimentaires indispensables. Pour atteindre ces objectifs ambitieux, l'accent est certes placé sur une meilleure gouvernance (politique, économique, gestionnelle) mais aussi sur les avancées récentes dans le domaine des sciences. Le Conseil international pour la science (formellement dénommé ICSU) qui avait pris une part active au Sommet de Johannesburg et dont l'action est souvent en phase avec les grands programmes de l'UNESCO, de même que certaines grandes fédérations telles que l'IAP (*Interacademy*

panel for international issues) ou l'IAC (*Interacademy Council*), ont conduit une série d'études dans la foulée du sommet. Certaines d'entre-elles avaient pour but d'examiner notamment en quoi les avancées récentes en génétique, génomique, etc. mais aussi en biotechnologies peuvent contribuer à la réalisation des divers « objectifs du millénaire » en préparant l'essor d'une agriculture durable. Nous tenterons ici d'en dégager les grandes lignes.

Dans la période comprise entre 1960 et 2000 la production globale de denrées alimentaires s'est accrue dans de grandes proportions du fait d'une agriculture intensive liée à une amélioration du machinisme agricole et à l'utilisation systématique des pesticides. Comme nous le verrons, cela a conduit à une surabondance dans les pays industrialisés sans régler, pour autant, les problèmes du Sud. Toutefois, certains pays en développement, notamment en Asie et en Amérique latine, ont commencé à bénéficier de l'essor moderne d'une agriculture de haut rendement et à connaître un début de croissance économique notable (Inde) voire très rapide (Chine populaire, Taïwan, Corée du Sud, Brésil, Mexique) en assurant leur autosuffisance alimentaire.

Au cours de cette période, on estime que la production mondiale de céréales a doublé et qu'elle s'est accrue *per capita*, d'environ 37 %, l'apport calorique augmentant de 35 %, tandis que le prix des denrées diminuait d'environ 50 % (cf. rapport ICSU : *Biotechnology and sustainable development*, G.J. Persely, J. Peacock et M. van Montagu, 2002). Parmi les facteurs d'amélioration, dans la production agricole, on doit mentionner la découverte des variétés « naines » (plus robustes) et les améliorations génétiques débouchant sur l'obtention de variétés de blé et de riz cultivables à haut rendement. Ce changement drastique dans le profil mondial de l'agriculture a été baptisé « révolution verte » (Borlaug, 1970)¹.

Ces améliorations scientifiques n'ont pas été seules responsables de ce souffle particulier que devait connaître l'agriculture mondiale. Il est clair que les politiques d'aides publiques, la création d'institutions appropriées, les engagements politiques (par exemple en Europe) assortis d'investissements publics et privés pour le développement des zones rurales, (par exemple pour l'irrigation...), tous ces facteurs réunis, ont contribué à diminuer, en valeur

1. Selon des estimations récentes, la révolution verte a stimulé la production globale des produits nutritifs au rythme de 2,8 % par an entre 1966 et 1990 pendant que, dans ce même laps de temps, la population mondiale s'accroissait au rythme annuel de 2,2 %. Malheureusement, cette tendance devait se modifier entre 1990 et 1997. Si le taux d'accroissement démographique avait baissé jusqu'à 1,7 %/an, celui de la production alimentaire chutait à 1,2 %. Dans l'intervalle, le nombre de personnes souffrant de malnutrition atteignait 850 millions...

absolue, le nombre de gens en état de pauvreté et à assurer l'autosuffisance alimentaire, notamment en Asie.

Ce ne fut hélas pas le cas pour tous ! Les gains de productivité dans divers pays, en particulier dans le continent africain, mais aussi dans certains pays de l'Asie centrale, et de l'Amérique du Sud, etc. n'ont pas suivi la tendance générale observée dans le reste du monde.

On estimait en 2002 (données FAO), que 850 millions de personnes dans le monde n'avaient pas accès à une nourriture suffisante du fait même de leur pauvreté (revenus inférieurs à 2 dollars voir même 1 dollar par jour). Environ 60 % de ces personnes vivaient dans certaines régions de l'Asie du Sud ou de l'Est et 25 % en Afrique subsaharienne. Or les projections actuelles concernant la population mondiale correspondent à un accroissement moyen de 75 millions d'êtres humains par an entre 2002 et 2020 et une très grande partie des habitants de la planète vivront dans des villes dont certaines seront de véritables mégapoles².

Ainsi pour nourrir la planète, la production de nourriture et de grains devrait augmenter d'environ 40 %, celle des plantes racinaires et à tubercules de près de 60 %, à l'horizon 2020 (Pinstrup-Andersen *et al.*, 1995). De même faudra-t-il doubler, la production de lait et de viande. Bien entendu, ces efforts ne porteront leurs fruits que si les familles pauvres voient s'accroître leurs revenus moyens, en conformité avec une agriculture durable, dans le but de préserver les ressources naturelles pour le long terme, et tout en évitant certains des effets dommageables liés aux pratiques agricoles anciennes.

En effet ces pratiques ont eu souvent des effets délétères sur l'environnement. Elles ont donné lieu, par exemple, à un accroissement de la salinité dans les zones irriguées. Elles ont eu certaines conséquences néfastes pour

2. L'accroissement des populations pauvres, notamment dans les zones suburbaines mais aussi le déséquilibre des régimes alimentaires lié, d'une manière générale, aux conditions de vie précaire, dans diverses parties du monde, entraînent l'apparition d'un ensemble de maladies ou de syndromes désignés aujourd'hui par l'OMS sous le nom de maladies de **transition alimentaire**. Ces syndromes se traduisent de manière quelque peu paradoxale, par un accroissement plus rapide de l'obésité, au sein des populations des pays en développement que parmi les populations des pays industrialisés (de fait, plus de 75 % des femmes âgées d'une trentaine d'années et qui sont en surpoids marqué, vivent dans des pays tels que les Barbades, l'Égypte, Malte, l'Afrique du Sud et pas seulement aux États-Unis). Ce paradoxe semble s'expliquer à la fois par un changement des habitudes alimentaires et dans les activités qui demandaient un gros effort physique. L'obésité n'est d'ailleurs pas la seule manifestation des changements dans le mode de vie au sein des villes ; on note en effet une forte augmentation des maladies cardiovasculaires et des cancers digestifs.

la santé humaine, l'écologie et la diversité biologique sauvage, du fait d'une utilisation parfois irraisonnée des pesticides.

À d'autres échelles, on a assisté à de vastes entreprises de déforestation (par exemple en Amazonie ou, plus récemment, dans certains pays africains, comme le Mozambique). La pêche (voir le chapitre II.3.2 sur la biodiversité) a également été pratiquée par certains pays à une telle ampleur que diverses espèces de poissons de grande consommation sont en voie de disparition.

Toutefois, une des menaces les plus graves pour les décennies à venir est celle de la pénurie en eau potable. Or l'agriculture est l'activité humaine comptant, de loin, pour être la plus grande consommatrice en eau (d'où le besoin en recherches pour une agriculture plus économe en eau, et pour le développement de variétés végétales résistantes à la sécheresse).

Plus généralement, la disponibilité des surfaces arables de la planète est limitée ce qui commande de nouvelles solutions pour une agriculture à la fois plus productive, moins polluante et plus économique en eau et en intrants.

Enfin, l'utilisation des variétés agricoles à l'ère moderne se limite, dans 90 % des cas, à un nombre compté de représentants des plantes vivrières (guère plus de 12 plantes de culture), à l'utilisation de cinq types principaux de denrées alimentaires (*livestocks*) ainsi qu'à deux espèces prépondérantes de poissons, résultant d'une sélection poussée à l'extrême pouvant conduire à l'abandon de très nombreuses espèces sauvages.

II.2.1.2. Une crise alimentaire mondiale – Le « retour de la faim »

Le début du présent millénaire a été marqué par une prise de conscience (particulièrement forte aujourd'hui) concernant l'existence d'une crise alimentaire extrêmement sérieuse dans certains pays du globe, au point de mobiliser les plus hautes instances internationales.

Le véritable facteur de déclenchement, dans cette prise de conscience, a été la flambée des prix des denrées alimentaires de base dans divers pays en développement ou émergents. Comme l'écrit Pierre Jacquet, chef économiste de l'Agence française de développement (*Sciences au Sud – le journal de l'IRD*, n° 44, avril-mai-juin 2008), « on assiste à un véritable « retour de la faim », comme en témoignent la hausse de 60 % en un an de l'indice des prix alimentaires de la FAO et l'explosion des prix des céréales et des produits laitiers ». Cette situation a entraîné des réactions nombreuses,

assimilables dans certains cas à de véritables révoltes dont certaines ont entraîné la chute des gouvernements en place. Au cours du premier semestre 2008, on a pu décompter une trentaine « d'émeutes de la faim », ce qui a suscité (3-5 juin 2008) une réunion internationale sur la sécurité alimentaire au siège de la FAO.

Les économistes, agro-écologistes, spécialistes des problèmes de nutrition, etc. estiment que les causes de cette aggravation sont de nature différente mais que, parmi les principales, figurent :

– Un ralentissement dans la production agricole, au point que certains pays, autrefois exportateurs, doivent désormais importer des volumes importants de denrées de base. Il en est résulté une diminution souvent très prononcée des stocks permettant habituellement de faire face en cas de nécessité à des atteintes brutales des productions locales consécutives à des situations extrêmes d'origine naturelle (sécheresse, etc.) ou faisant suite à des conflits ;

– Un fléchissement prononcé des investissements dans le secteur agricole et le fait que l'aide extérieure s'est plus souvent focalisée sur l'amélioration des grandes infrastructures que vers l'aide directe à la production vivrière locale. Il convient, en effet, de rappeler (cf. dossier INRA, n° 5, juin 2008, « Penser la recherche agronomique au niveau mondial ») que, depuis 1982, la Banque mondiale n'avait plus consacré un rapport annuel à l'Agriculture alors que, dans son rapport de 2008, elle a pris conscience de la replacer dans les priorités pour le développement ; elle insiste désormais sur la nécessité de soutenir l'agriculture à petite échelle ainsi que l'emploi rural. Il faut dire que, selon l'OCDE, la part de l'agriculture dans l'aide au développement était passée de 11,5 % (1984-85) à 3,4 % (2004-2005) ;

– L'élévation fulgurante du coût de l'énergie (notamment pétrolière) ;

– L'accroissement démographique et la consommation croissante des pays émergents, avec un accroissement de l'alimentation carnée ;

– L'augmentation de la demande « non alimentaire » (développement des biocarburants) ;

– Le très récent Sommet mondial de Rome s'est engagé à faire en sorte que la faim dans le monde connaisse une diminution de 50 % d'ici à 2015 et les promesses d'aide alimentaire urgente recueillies lors de ce Sommet, de la part des pays participants, atteignent 6,5 milliards de dollars.

La crise actuelle a contribué à élargir la réflexion sur les perspectives, à moyen et long termes, dans le domaine de l'agriculture et de la nutrition à l'échelle planétaire. Nombre d'experts estiment que, pour nourrir une population mondiale qui devrait atteindre 9 à 9,5 milliards d'habitants d'ici à 2050,

il faudra multiplier par 2 la production céréalière et par 3 les fournitures liées aux besoins azotés, avec un accroissement d'environ 90 % dans les volumes d'eau utilisables, sans parler de la nécessité de mettre en culture des surfaces géographiques importantes souvent au détriment de l'environnement.

D'une manière générale, à la suite de la publication, en avril 2008, des conclusions du groupe d'expertise internationale des sciences et technologies agricoles pour le développement (l'IAASTD ou *International Assessment of Agricultural Knowledge, Science and Technology for Development*, un groupe placé sous l'égide de la Banque mondiale, de la FAO, de l'ONU et d'une soixantaine d'États), il faut « repenser la recherche agronomique à l'échelle mondiale ». La science, les biotechnologies peuvent, à coup sûr, contribuer à la lutte contre la pauvreté et la faim. Mais elles n'y parviendront que si, désormais, se dessinent de meilleures « synergies entre biologie, écologie et sciences sociales pour mieux prendre en compte la diversité des situations agricoles et leur vulnérabilité » (dossier INRA, n° 5, juin 2008). C'est en gardant présents à l'esprit cette nécessité et ce nouveau contexte que nous commenterons, à présent, certains des apports de la biologie et des biotechnologies en secteur agricole et agroalimentaire.

II.2.2 APPORTS DE LA GÉNOMIQUE

Il nous faut, à présent, fournir un aperçu d'ensemble sur les principales contributions dont nous sommes redevables aujourd'hui aux développements de la biologie contemporaine, notamment dans le domaine de la génétique, développements qui visent à répondre aux principaux défis qu'impose une agriculture durable.

On est donc conduit à examiner ce qu'apportent, ou sont en voie d'apporter, la génétique moléculaire dont nous avons précédemment dépeint les grandes réalisations et les perspectives, ainsi que les technologies nouvelles qui s'y trouvent associées.

Il est certain, en premier lieu, que de gros progrès ont été enregistrés dans la connaissance du fonctionnement physiologique des plantes, de leur réponse à l'environnement et de leurs mécanismes de résistance aux pathogènes. C'était là un prérequis indispensable à toute intervention s'inscrivant dans le concret. Cette connaissance doit conduire à un choix plus raisonnable des caractères que l'on s'efforcera de sélectionner lors des programmes de croisements, dans le but d'améliorer la productivité des plantes vivrières, des arbres (ainsi d'ailleurs que des espèces animales, par exemple les poissons).

La génétique et ses développements récents (génomique, etc.) fournissent tout d'abord des marqueurs moléculaires pour la caractérisation et la conservation des variétés agricoles intéressantes. Ainsi se trouve facilité le diagnostic des phytopathogènes et améliorée notre connaissance des mécanismes de défense, donc la protection des végétaux contre les maladies qu'ils peuvent contracter, ce qui inclut d'ailleurs le développement d'approches vaccinales.

Mais s'il fallait évoquer schématiquement, les apports directs de la génétique moléculaire à l'agriculture, on pourrait dire qu'ils se situent aujourd'hui à deux niveaux principaux :

- a) améliorer l'efficacité des pratiques agricoles actuelles,
- b) définir de nouvelles options agricoles par l'introduction de souches transgéniques, modifiées pour un trait physiologique particulier ou pour plusieurs d'entre eux.

Nous avons examiné, dans les précédents chapitres, les principales démarches inhérentes à la génomique structurale et fonctionnelle et décrit certains des résultats issus de ces approches et concernant les plantes. D'importantes observations ont été réalisées, notamment sur les céréales (blé, riz, maïs), et l'étude des gènes d'intérêt (croissance, robustesse, résistance aux maladies, qualité nutritionnelle, etc.) a beaucoup progressé. Cette étude bénéficie des données relatives à la synthénie. En effet, ces trois céréales majeures, non seulement partagent de très nombreux gènes en commun à la fois entre elles mais aussi avec d'autres plantes sauvages ou cultivées. En outre, les nouvelles technologies que représente l'établissement des transcriptomes et des protéomes, applicables aux espèces cultivables, facilitent beaucoup l'analyse de leurs réponses aux changements de l'environnement (ex. stress abiotiques ou biotiques), ainsi que la caractérisation (par la protéomique) de nouvelles protéines d'intérêt et l'approfondissement des voies métaboliques.

II.2.3. LES PLANTES TRANSGÉNIQUES – QUELQUES DONNÉES GÉNÉRALES

Parmi les gènes d'intérêt que la génomique permet aujourd'hui de bien caractériser et que la transgénèse permet éventuellement de transférer pour développer des propriétés nouvelles, figurent principalement, ceux qui sont impliqués dans la résistance des plantes à la sécheresse et à la salinité, ou aux stress biotiques (notamment des virus ou des insectes), ainsi que des gènes importants pour accroître la conservation (stockage) des plantes vivrières, et leurs qualités nutritives.

Si les méthodes conventionnelles, c'est-à-dire le recours aux croisements et à la sélection de cultivars ont pu permettre de réaliser souvent d'importants progrès dans l'acquisition des caractéristiques utiles, les procédés biotechnologiques, notamment la sélection assistée par les marqueurs moléculaires et les procédés de transgénèse sont peu à peu en train de revêtir également une grande importance pour l'agriculture à l'échelle de la planète.

L'année 2005 a marqué le 10^e anniversaire de la commercialisation des organismes génétiquement modifiés (OGM) que certains appellent également « variétés biotechnologiques ». En 2005, on estimait à 400 millions d'hectares les plantations de variétés transgéniques en surface cumulée sur 10 ans (dans environ 21 pays d'importance économique, il est vrai, très contrastée). La surface globale de plantes OGM approuvées par les pays consommateurs était estimée à 90 millions d'hectares pour l'année 2005 (contre 81 millions d'hectares en 2004 et 52,6 millions en 2001). En 2005, les États-Unis, suivis par l'Argentine, le Brésil, le Canada et la Chine étaient encore les principaux pays producteurs de plantes génétiquement modifiées, avec une production globale issue de 49,8 millions d'hectares pour les seuls États-Unis. Parmi les pays de l'Union européenne cultivant (quoiqu'à un moindre degré) des plantes transgéniques (il s'agit surtout de maïs génétiquement modifié), figurent aujourd'hui l'Espagne, l'Allemagne, la France, le Portugal et la République tchèque. Enfin, sur les 21 pays de la planète qui ont ainsi recours à la transgénèse en agriculture, 11 sont des pays en développement et 10 des pays industrialisés. Par exemple, sur un total de 90 millions d'hectares cultivés en 2005, les pays en développement contribueraient globalement pour 33,9 millions d'hectares.

Même si, comme nous le verrons, des oppositions parfois très sévères continuent à se faire jour à l'utilisation des OGM, notamment en Europe et si l'objectivité scientifique demande que soient évalués les risques autant que les avantages de cette nouvelle technologie, les estimations récentes font ressortir un bénéfice économique cumulé (1996-2004) équivalent à 27 milliards de dollars (dont 15 milliards pour l'ensemble des pays en développement concernés et 12 milliards pour les pays industrialisés).

De même, la réduction dans l'utilisation des pesticides chimiques, entre 1996 et 2004, a été estimée à 172 500 mégatonnes !

D'autres données concernant le statut professionnel des personnes produisant des variétés transgéniques indiquent qu'en 2005, par exemple, il fallait dénombrer environ 8,5 millions de cultivateurs (sur 21 pays producteurs) parmi lesquels 7,7 millions ne disposent que de faibles ressources (dont 6,4 millions en Chine, 1 million en Inde...).

Le soja transgénique continuait, en 2005, à occuper la première place parmi les plantes génétiquement modifiées, et couvrait une superficie totale équivalente à 54,4 millions d'hectares, suivi par le maïs transgénique (21,2 millions d'hectares), le coton (9,8 millions) et la canola (4,6 millions).

● *Principaux types de modifications introduites par transgénèse végétale à des fins agricoles*

Parmi les traits les plus fréquemment transférés dans les plantes transgéniques, figure (référence 2005) en premier lieu, la tolérance aux herbicides, suivie de la résistance aux insectes. Ainsi, en 2005, la tolérance aux herbicides transmise génétiquement dans des plantes telles que le soja, le maïs, la canola et le coton, mobilisait 63,7 millions d'hectares (soit 71 % du total des surfaces occupées par les plantes transgéniques). Parmi les autres traits importants que s'efforcent de transmettre les producteurs d'OGM figurent, la résistance à la sécheresse et à la salinité ainsi que la résistance aux insectes nuisibles.

● *Sécheresse et salinité*

L'agriculture dépend, de plus en plus, de l'irrigation. Selon Brian Johnson, les surfaces irriguées représentaient, en 1960, 10 % des surfaces cultivées à l'échelle mondiale. Cette proportion s'élèverait aujourd'hui à 20 %, la culture irriguée contribuant pour au moins 40 % à la production agricole totale. Le problème préoccupant est que l'irrigation des cultures utilise les 2/3 de l'eau consommée dans le monde, la consommation urbaine n'en représentant que 1/10^e et l'industrie environ 1/5 (le développement des pays émergents va accroître toutefois ces deux derniers facteurs d'utilisation).

Non seulement la demande en eau d'irrigation croît régulièrement, mais la sécheresse augmente également en fréquence et en intensité. On constate, en effet, que des zones autrefois cultivables sont devenues improductives du fait d'une sécheresse récurrente et de la diminution des précipitations. Cette situation est particulièrement critique dans la vallée de l'Indus au Pakistan dont les terres arables sont soumises à une salinité accrue (accroissement des dépôts en chlorures et en sulfates (cf. FAO, 2003)). Ces phénomènes de sécheresse récurrente et de dépôts salins sont désormais fréquents au Moyen-Orient, en Asie centrale, en Amérique du Sud ainsi que dans certaines parties de l'Afrique et de l'Australie (rapport FAO, 1998).

Il existe diverses parades aux effets néfastes de la sécheresse et de la salinité sur les plantes : certaines reposent sur la culture de variétés végétales naturellement résistantes ; d'autres sur la mise en œuvre d'espèces génétiquement modifiées.

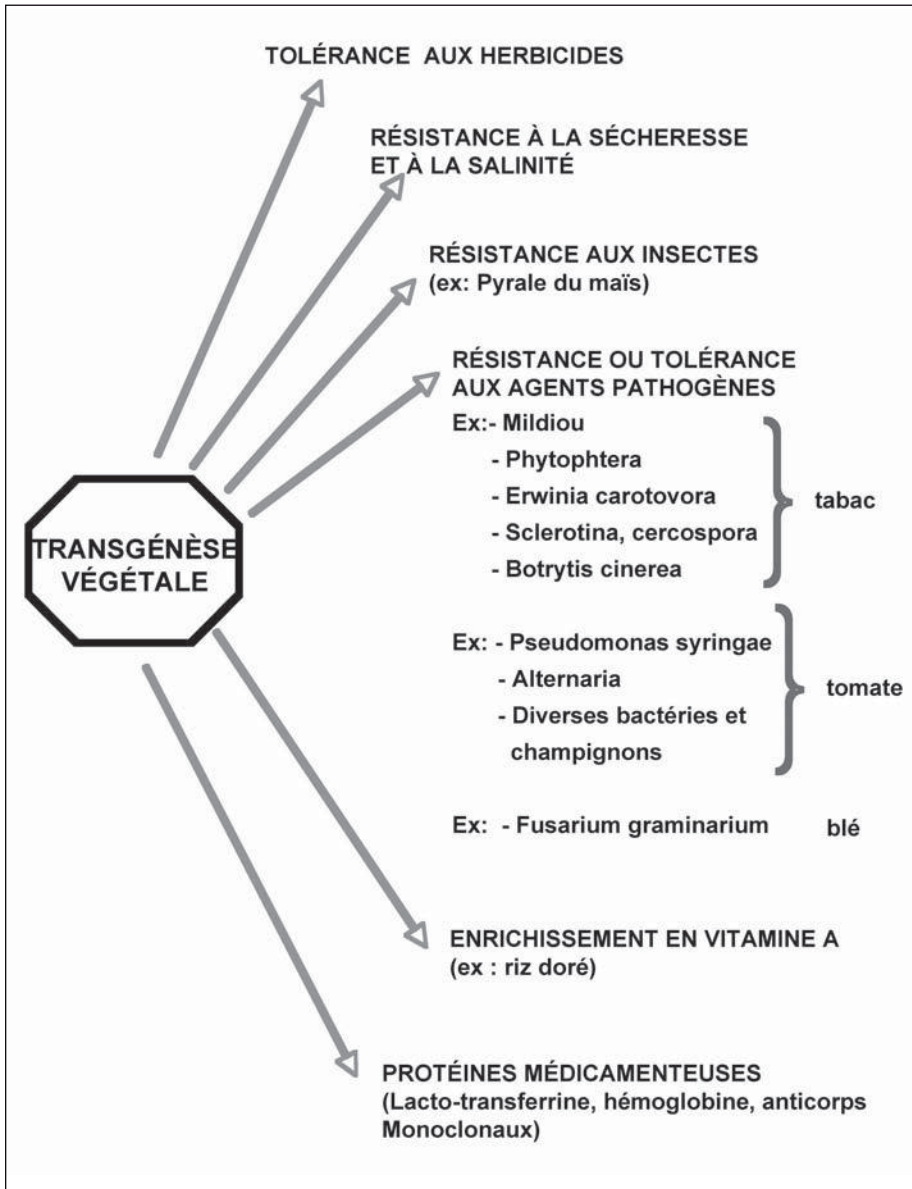


Fig. 7. Principaux types de modifications introduites par transgénèse végétale à des fins agricoles ou autres

Voir le chapitre consacré aux plantes transgéniques

cf. également Biofutur « Plantes à tout faire », 242 :16 (2001), *ibid.* p. 24.

En ce qui concerne le recours aux plantes naturellement résistantes, on peut citer l'exemple du riz et du blé tolérants au sel et aux ions sodiques qui sont cultivés en Inde. Ces variétés ont été obtenues par croisements entre des représentants très anciens de ces céréales, lesquels manifestent une tolérance naturelle, et des variétés naines à haut rendement qui sont communément utilisées en Asie. Une autre illustration, fondée sur ce type de croisement à trait à une variété de maïs dont le rendement de croissance sur terrain sec est de près de 50 % supérieur à celui du maïs traditionnel (CIMMYT, 2003).

Mais il est également possible de faire appel au transfert de gènes. De tels gènes ont été caractérisés chez de nombreux végétaux, y compris chez la « plante modèle » *Arabidopsis thaliana*, ainsi que chez d'autres plantes non utilisées en agriculture, telles les plantes xénophytes ou encore chez certaines bactéries.

La découverte des gènes de la série *Dreb* chez *Arabidopsis* (1990) a soulevé un grand intérêt quand il fut observé que ces gènes pouvaient entraîner, après transfert chez des plantes d'intérêt agricole, la tolérance à la sécheresse et au sel. Ainsi, le gène *Dreb 1-A* fut transféré dans des variétés de blé qui manifestèrent une résistance prolongée à la sécheresse et se montrèrent beaucoup moins exigeantes en eau (CIMMYT, 2004). De même, le gène *HVA-1*, d'intérêt agricole, dérivé de l'orge, s'est avéré bénéfique dans la culture des plantes en zone aride (AGERI, 2005). Des gènes de *E. coli* codant pour la fabrication du tréhalose peuvent conférer au riz une résistance double à la sécheresse et aux sels (Su *et al.*, 1998 ; Garg *et al.*, 2002). Ces diverses approches scientifiques sont certes riches de promesses, on peut néanmoins s'interroger sur les effets que sont susceptibles d'avoir ces variétés transgéniques sur l'environnement (équilibres écosystémiques).

● *Autres caractéristiques*

En dehors de la résistance à la sécheresse et au sel, les bio-agronomes se sont intéressés à d'autres caractéristiques susceptibles d'être conférées par modification génétique. Il s'agit de la résistance aux insectes ravageurs, aux maladies, ainsi qu'aux herbicides, mais aussi de la capacité à produire des protéines à effets thérapeutiques et, bien entendu, de l'amélioration générale de la productivité agricole.

Plusieurs plantes d'intérêt agricole ont ainsi été rendues résistantes à certains herbicides, substances chimiques d'utilisation généralisée pour la destruction des adventices. Ce fut même l'un des premiers traits physiologiques que les industries biotechnologiques ont cherché à induire par transgénèse. Parmi les herbicides en question, citons le glyphosphate (plus connu

sous le nom de Round up®, la phosphinothricine (Basta®) et le glufosinate (Liberty®). En 2005, le caractère de tolérance aux herbicides tel que déployé dans des plantes aussi variées que le soja, le maïs, la canola et le coton, correspondait à une occupation de 63,7 millions d'hectares de champs cultivables (71 % de toutes les plantes transgéniques).

D'une manière générale, le rendement potentiel des cultures est très souvent limité par suite du tribut payé aux maladies et aux insectes nuisibles. Il est établi que dans le cas des céréales, les pertes de rendement annuel peuvent dépasser 25 % ! En 1998, l'Afrique a perdu 60 % de sa récolte en Cassava du fait des ravages causés par le virus de la « mosaïque ». Les baisses de rendements dues à des atteintes virales sont fréquemment observées sur le sol africain pour la culture de la patate douce. La lutte contre les insectes représente un autre objectif majeur des stratégies biotechnologiques modernes. En 2005, cet objectif mobilisait plus de 10 millions d'hectares... Une stratégie fréquemment utilisée consiste à transférer aux plantes (grâce au « plasmide » d'*Agrobacterium tumefaciens*, selon la technique découverte en 1987 par les chercheurs belges, J. Schell et M. Van Montagu)³, un fragment d'ADN provenant d'une bactérie du sol, *Bacillus thuringiensis*. En effet, ce fragment comporte un gène, le gène Bt, codant pour une protéine normalement accumulée dans les spores du Bacille sous la forme d'un « cristal » lequel possède un pouvoir toxique très puissant vis-à-vis des larves d'insectes. Une application courante porte sur la protection du maïs-Bt à l'encontre de la pyrale, un insecte ravageur (« pest » en anglais) dont les chenilles sont particulièrement nuisibles. Mais bien d'autres plantes à large spectre agricole, telles que le riz ou le soja, ont ainsi été rendues résistantes aux insectes les plus ravageurs. C'est aussi le cas du coton. La culture du coton transgénique pour le gène Bt a entraîné une réduction de plus de 75 % dans l'utilisation des pesticides, notamment en Chine, où ces agents étaient traditionnellement pulvérisés à la main sur les récoltes (400 à 500 fermiers seraient décédés des suites d'un empoisonnement aigu par les pesticides).

Souvent, la modification génétique ne concerne pas qu'un seul gène (préalablement purifié par génie génétique) mais plusieurs (*staggered gene transfer*). Par exemple, ont été commercialisés des plants de maïs ou de coton porteurs du gène Bt de résistance aux insectes et d'un ou plusieurs gène(s) de résistance aux herbicides.

3. Il existe une méthode alternative pour le transfert du gène Bt (et pour d'autres exemples de transgénèse chez les plantes). Cette méthode, découverte il y a plus d'une quinzaine d'années, est appelée « biolistique ». Elle consiste à bombarder les cellules végétales avec des microbilles de tungstène recouvertes d'ADN porteur du « transgène » (technique dite du canon à gènes).

En dehors des gènes Bt codant pour la toxine de *B. thuringensis*, d'autres gènes capables de transférer la capacité de résistance aux insectes commencent à être étudiés tels que les gènes codant pour des inhibiteurs de protéases et d' α -amylase, ou pour des lectines. Le but recherché ici est de bloquer la digestion des protéines et de l'amidon par les insectes prédateurs.

Outre la production des maïs et des colzas rendus résistants aux insectes, la transgénèse a été mise en œuvre pour induire la résistance à de nombreux agents pathogènes, chez des espèces végétales d'intérêt agricole ou autre (cf. *Biofutur*, n° 242, M. Durand, Tardiff et T. Candresse, mars 2004). Ainsi, le tabac (*Nicotiana benthamiana*) a reçu, par transgénèse, deux gènes, RPW8 et RPW8₂, isolés d'*Arabidopsis* qui lui confèrent la résistance au mildiou poreux. Autre exemple, le transfert des gènes BCl₂ et BCl-X, d'origine humaine, gènes « anti-apoptotiques », empêche le déclenchement de la mort cellulaire programmée des plants de tabac, consécutive à des infections fongiques produites par le *Botrytis cinerea* et à l'action du virus TSWW. Un autre gène de phéromone, OHL, transféré au tabac le protège contre une infection par *Erwinia carotovora*. D'autres transgènes codant pour des peptides à activité anti-microbienne ont déclenché l'apparition chez cette plante d'une résistance à large spectre aux bactéries, champignons et insectes. Enfin, le mécanisme « d'interférence-ARN » a également été mis en jeu en transférant des fragments du virus à ARN.

La tomate s'est vu conférer une résistance étendue à divers pathogènes (bactéries, virus, champignons) par surexpression du gène Prf ; le gène d'un baculovirus, p35, inhibiteur d'enzymes intervenant dans la mort cellulaire programmée, empêche l'apparition de ce phénomène chez la tomate infestée par des espèces fongiques ou bactériennes.

Une autre illustration des possibilités de protection par transgénèse concerne le blé, chez qui le transfert d'un gène, TriR, codant pour une enzyme inactivant la mycotoxine de *Fusarium graminearum*, inhibe l'action de cette toxine. Quant au riz, des auteurs japonais (Hayakawa *et al.*, 1992) ont introduit, dans diverses variétés, le gène du « *rice strip virus* » codant pour sa protéine d'enveloppe et obtenu la protection de ces riz transformés vis-à-vis de diverses infections virales. Des résultats similaires ont été obtenus, selon la même stratégie, chez la tomate et le tabac.

Enfin diverses approches utilisant les transgènes ont permis de retarder le vieillissement des feuilles ou la dégradation de la protéine « Rubisco », permettant une activité chlorophyllienne plus soutenue de la canopée.

D'une manière générale, il est vrai, la plupart des caractéristiques des aliments sont dépendantes de, ou contrôlées par, plus d'un gène unique. Il en est ainsi du goût, de l'arôme, de la couleur, de la valeur nutritive ou d'autres facteurs de la qualité alimentaire. En effet, ces propriétés sont la résultante de réactions biochimiques complexes. Aussi, le rendement de culture d'une plante relève également de caractéristiques diverses liées au développement de la plante, à sa floraison, etc. Il en va de même pour de nombreuses aptitudes de résistance aux stress. On sait, par exemple, que plusieurs gènes interviennent dans la résistance des plantes cultivables aux infections fongiques. La réponse à la sécheresse (décrite ci-dessus) implique des changements métaboliques relativement bien connus dans le cas du sorgho lesquels permettent à la plante de réduire sa consommation en eau.

● *Physiologie globale – Qualité nutritive*

Il apparaît dès lors que, dans le futur, la technologie des OGM devrait concerner de façon croissante des propriétés et caractéristiques physiologiques globales des plantes cultivables, en ayant recours au transfert de gènes multiples. Les produits d'expression recherchés devraient concourir par exemple à l'instauration d'un mécanisme nouveau de biosynthèse vis-à-vis d'un constituant clé pour la santé (ex. : vitamine), à des processus de détoxification de l'environnement (bioremédiation), à l'apparition de nouvelles propriétés horticoles ou encore à un meilleur rendement de croissance. Ces objectifs peuvent déjà être atteints par des techniques de croisements successifs mais cette approche plus traditionnelle demande souvent un investissement de temps considérable. D'où l'intérêt qui s'attachera, peut-être à une transformation génique combinée (*gene stacking strategy*).

Parfois, cependant, l'introduction d'un seul gène peut néanmoins suffire à apporter un changement métabolique majeur, modifiant la physiologie de la plante. Par exemple, en ce qui concerne l'augmentation de la productivité agricole, certains travaux visent à accroître l'efficacité de la photosynthèse en améliorant le contrôle de la perte en eau par les feuilles des céréales, ou par régulation de l'ouverture et de la fermeture des stomates (Mann, 1999 cité dans « Changing life », *biovision*, Alexandrie 2006, p. 251). D'autres chercheurs s'efforcent de modifier la photosynthèse du riz, en tentant de substituer la voie métabolique en C₃, par une voie en C₄, grâce à l'introduction d'un gène cloné du maïs intervenant dans le métabolisme des précurseurs de l'amidon en C₄ (Ku *et al.*, 1999 ; Matsuoka *et al.*, 2001). D'autres essais concernent l'accumulation d'amidon. En effet, la biosynthèse de ce polysaccharide joue un rôle central dans le métabolisme de la plante (formation des réserves dans les graines, les racines, les tubercules et les fruits). C'est pourquoi, on s'efforce d'améliorer le stockage de l'amidon dans les organes des

plantes en accroissant l'expression du gène codant pour l'ADP glucose phosphorylase (gène ADPGPP) (Kirshore, 1994). Les contenus en amidon et en matière sèche des tubercules de pomme de terre ont été sensiblement accrus après transfert du gène *glg^{C16}* d'*E. coli* qui code précisément pour cette enzyme (Stark *et al.*, 1992). Mais il s'agit là plutôt de nouvelles voies de recherche qui n'ont pas encore débouché sur des applications agricoles. À ce même chapitre des « conversions métaboliques », on peut rattacher désormais l'émergence d'OGM végétaux affectés à la production de molécules à effets thérapeutiques, chez qui l'on s'efforce de combiner, apport nutritif et action bénéfique pour la santé humaine, (médicaments, vaccins, anticorps, protéines humaines, vitamines).

● *Transgénèse végétale et santé*

Une illustration particulièrement intéressante de cette transgénèse à double effet est celle qui a conduit à la production de ce que l'on a appelé le riz doré (*yellow rice*) enrichi en α -carotène, précurseur de la vitamine A. En transformant le riz par apport de transgènes émanant de sources biologiques diverses (*staged gene transfer*), on est parvenu à obtenir des variétés de riz dont la couleur jaune est due à l'accumulation du β -carotène. C'est là un moyen intéressant pour lutter contre la carence en vitamine A qui affecte de nombreux enfants vivant dans des contrées où le riz est, de très loin, l'élément quasi exclusif du régime alimentaire tels que le Vietnam, le Laos, le Cambodge, le Népal, le Bangladesh et l'Inde. Cette carence est plus ou moins prononcée mais toujours grave. L'une de ses conséquences est la cécité précoce qui frappe de très nombreux enfants, mais aussi des troubles du développement et de la réponse immunitaire aux infections.

Plusieurs équipes se sont attaquées au problème de l'enrichissement du riz en β -carotène (Ye *et al.*, 2002). Deux gènes provenant l'un d'une fleur (la jonquille) et l'autre issu d'une bactérie (*Erwinia uredovora*) ont été introduits dans une variété de riz modèle, la variété Taipei 309. Certains des plants fertiles ont été utilisés à leur tour pour transférer génétiquement la voie biosynthétique du carotène dans d'autres variétés. Toutefois le riz Taipei 309 n'est plus cultivé du fait de son faible rendement potentiel. Une autre équipe (Hoa *et al.*, 2003) a introduit les mêmes gènes dans des riz « indica » et « japonica ».

À côté des tentatives de renforcement des cultivars agricoles en vitamine, il faut mentionner les approches visant à accroître leur contenu en lysine, un acide aminé essentiel, dans le maïs, le soja et le colza. Cela a pu être réalisé grâce au transfert de deux gènes : le gène *dapA*, codant pour le précurseur de la lysine, (l'acide dihydrodipicolinique ou DPHS), gène provenant de *Corynebacterium*, et le gène *lys-C* d'*E. coli* codant pour une Aspartokinase (AK).

Ces plantes génétiquement modifiées voient leur contenu en lysine s'accroître d'un facteur 5.

Enfin, depuis peu, comme nous l'avons rapidement évoqué, des espoirs sont placés par certaines industries pharmaceutiques dans l'utilisation de la transgénèse végétale pour l'obtention de protéines à effet thérapeutique (enzymes, antigènes, anticorps, protéines humaines). L'intérêt de cette approche peut résider, notamment, dans le fait que pour certains pays en développement, l'accès à la vaccination n'est pas toujours assuré et, il importe de lutter à la fois contre la malnutrition et contre certaines épidémies virales. Un exemple est celui de la banane modifiée génétiquement pour exprimer l'antigène Hbs dont on sait l'effet vaccinant contre l'hépatite B. Généralement parlant, les plantes transgéniques pourraient avoir un assez grand avenir pour la production de protéines médicamenteuses. Par exemple, le tabac est utilisé dans la production de lactotransferrine et d'hémoglobine humaine, divers végétaux peuvent être modifiés génétiquement pour la production d'anticorps monoclonaux. Citons, à cet égard, le succès obtenu par une équipe cubaine laquelle a produit à partir de plants de tabac un anticorps dirigé contre l'antigène Hbs du virus de l'hépatite B, (avec un rendement maximum de 25 mg d'anticorps par kg de biomasse). Cet anticorps sert, à son tour, d'agent immuno-purificateur de l'antigène correspondant...

L'intérêt de la production de protéines à effet thérapeutique par transgénèse végétale tient au rendement des cultures sur de grandes surfaces mais également à un risque mineur de transmission de pathogènes viraux à l'homme, risque non négligeable lorsque l'on s'adresse à des productions animales.

À côté des espoirs placés par l'industrie pharmaceutique dans le recours aux plantes transgéniques, il convient également de mentionner celui qui est désormais exprimé également par l'industrie chimique. Les plantes transgéniques pourraient en effet devenir des usines biologiques potentielles capables de fabriquer des produits chimiques à impact industriel, comme l'indiquent déjà certaines réalisations concernant la production de lubrifiants, parfums, arômes, etc.⁴

● *Espoirs – Réserves – Risques potentiels*

Comme on peut le voir à travers ces divers exemples illustrant les propriétés existantes ou potentielles des plantes transgéniques, le

4. Mais là, peuvent apparaître les mêmes problèmes d'éthique agroalimentaire que pour la production des biocarburants de première génération. Si, toutefois, il s'agissait de cultures à grande échelle...

développement rapide de nouvelles techniques conduisant à la modification de nombreux organismes végétaux par transgénèse suscite, à n'en pas douter, un intérêt croissant assorti d'investissements souvent considérables dans les biotechnologies. Toutefois, malgré les progrès accomplis, ou à attendre, de la recherche en génétique, les biotechnologies (prises dans un sens large) et plus particulièrement la production et l'utilisation des OGM, continuent de provoquer parfois de vives controverses et de susciter les inquiétudes du public, notamment en Europe. Il semble que le sentiment exprimé pour ou contre les OGM dépende moins de données scientifiques que d'une crainte concernant ce que d'aucuns considèrent comme une marchandisation systématique de la nature. À cet égard, si le public accorde généralement sa confiance aux scientifiques, il se méfie des autres parties prenantes « industries, gouvernements, administrations » (extrait de « OGM, enjeux de recherche » document d'information du Ministère de la Recherche, 2001)

Les préoccupations du public concernant les applications de la biotechnologie notamment au regard des OGM peuvent être envisagées sous quatre angles différents. Elles peuvent être d'ordres éthique, socio-économique, médical ou environnemental.

En ce qui concerne la dimension éthique du problème, on peut dire que la question la plus fréquemment évoquée porte sur la propension de l'homme à transgresser les lois naturelles, par franchissement des barrières biologiques, réalisant le rêve cartésien qui voulait faire de l'homme « le maître et possesseur de la nature... ». On touche ici à ce que d'aucuns considèrent comme l'aspect prométhéen d'une exploitation sans limite du monde vivant.

Ici plusieurs remarques s'imposent. La première relève d'un constat scientifique : dans la nature, le transfert de gènes est la règle, principalement dans le monde microbien (plasmides, transposons), mais c'est le cas également chez les plantes.

En second lieu, les procédés classiques d'hybridation et de croisements utilisés depuis le néolithique pour nourrir l'homme et les animaux ont eux aussi modifié le sol et engendré souvent une perte des espèces sauvages, bien avant l'émergence des biotechnologies ! Mais il est vrai qu'elles n'ont pas conduit à un brassage de gènes d'un règne biologique à un autre comme le font les interventions transgéniques.

Enfin, si les pays à faibles ressources, en particulier les pays en développement, parvenaient grâce aux biotechnologies à un meilleur équilibre alimentaire atténuant quelque peu les disparités Nord-Sud en ce qui concerne

la qualité de vie (échéance, il est vrai encore lointaine mais plausible), alors la morale comme l'éthique auraient gagné !

Les préoccupations d'ordre socio-économique sont en rapport avec les risques économiques graves que peuvent faire encourir de grandes multinationales à visée agroalimentaire à une agriculture plus traditionnelle et, plus encore, aux petits agriculteurs. Ceux-ci pourraient se voir dépossédés de leur gagne-pain, si l'on assiste à une production transgénique « standard », de très grande échelle, à des prix de vente faibles à l'unité et pour des produits de longue conservation. Cette inquiétude n'est pas sans fondement. Elle peut être d'autant plus fondée que la propriété intellectuelle dans l'obtention de cultivars transgéniques rendrait l'agriculture traditionnelle tributaire de grandes entreprises détentrices des brevets, par exemple sur des semences modifiées. On se souvient ici de l'âpreté (justifiée) des débats à propos de la présence du gène « Terminator » dans la semence des premiers OGM commercialisés aux États-Unis. L'introduction de ce gène avait été conçue pour bloquer la germination des graines issues de la plante cultivée, ce qui obligeait le cultivateur à racheter des semences au fabricant chaque année ! Cette technique n'a plus cours, mais la dépendance vis-à-vis des brevets subsiste.

En ce qui concerne la sécurité des aliments et la santé humaine, ont été soulevées des questions relatives à la toxicité des aliments transgéniques et au pouvoir allergénique des protéines artificiellement synthétisées ainsi qu'à la valeur nutritionnelle de ces aliments.

Mais, il ne semble pas (du moins pour l'heure) qu'aient été signalés des effets significatifs sur la santé humaine. Rappelons que certains produits de très grande consommation, comme ceux dérivés du maïs transgénique (ou ce maïs lui-même) sont utilisés, depuis près d'une décennie, aux États-Unis, au Canada, ou en Chine sans qu'ait été relevé d'effet nocif spécifiquement attribuable au caractère transgénique. Pour autant, il est juste de souligner que l'on ne dispose, sans doute, pas d'un recul suffisant permettant d'écarter tout risque. En s'inspirant du principe de précaution, l'Union européenne a édicté des directives. Directives 90-219, revues en 1998 (directive 98/81/CE) et 90-220 énonçant des critères d'évaluation des risques des OGM pour l'environnement et la santé ; directive 2001/8/CE, modifiant la directive 90-220, sur le règlement des « nouveaux aliments » et sur l'étiquetage, et directive 98-44 concernant la protection juridique des inventions biotechnologiques. La législation est donc en évolution permanente. Comme on peut le voir, ont été préconisés en Europe l'étiquetage des produits présentés et leur traçabilité, c'est-à-dire la connaissance des phases successives de leur élaboration, de leur utilisation, de leur mise en vente...

C'est principalement au plan écologique que se manifestent les préoccupations et les polémiques les plus fréquentes non seulement du monde des écologistes mais aussi du public en général.

Parmi les risques écologiques potentiels qui sont identifiés, figure la possibilité d'une dissémination du transgène provenant de la variété agricole génétiquement modifiée vers son homologue non-transgénique ainsi que vers les plantes sauvages apparentées se trouvant présentes dans les champs à proximité. On a ainsi évoqué, autrefois, dans les débuts de la transgénèse végétale, le risque d'une dissémination d'un marqueur de résistance aux antibiotiques qui fut utilisé pendant quelque temps par les producteurs d'OGM végétaux pour vérifier l'incorporation effective du transgène d'intérêt dans la plante receveuse et pour sélectionner les cellules transformées. Cette technique de sélection des plantes transgéniques a été abandonnée. Un autre type de risques, fréquemment mis en avant, concerne un flux génétique indésirable véhiculant un gène de résistance aux herbicides, d'une espèce végétale transgénique, vers une espèce sauvage. D'autres risques écologiques potentiels peuvent être associés à la dissémination du gène Bt qui confère chez la plante transgénique une résistance aux insectes ravageurs. On a notamment redouté que se développent des populations d'insectes résistant au produit du gène Bt lorsqu'ils sont exposés à la plante transgénique. Pour réduire ce risque, il est désormais préconisé de planter, au voisinage des cultures de maïs ou de coton, de type Bt, des secteurs dits « de refuge » pour les insectes, formés par les cultures des mêmes espèces végétales mais non transformées. Cette précaution, qui semble être désormais assez généralement adoptée est d'autant plus utile que des espèces vivantes, telles que des oiseaux ou des papillons, sont également à prendre en compte dans cet écosystème. S'il est vrai que certaines précautions semblent donc justifiées pour protéger l'environnement d'effets délétères éventuels causés par les plantes de culture transgéniques, il est également juste de convenir que celles-ci peuvent présenter en revanche des effets bénéfiques pour l'environnement. Tout d'abord, comme nous l'avons signalé, leur culture permet de réduire de façon drastique l'utilisation des pesticides, ainsi que le souligne régulièrement la FAO.

D'autres applications (potentielles il est vrai), à mettre au compte d'effets positifs par réduction des impacts sur l'environnement, concernent la production de plastique biodégradable ou de coton coloré (pour réduire la dépendance vis-à-vis des colorants synthétiques). De même la recherche a-t-elle apporté certaines modifications génétiques aux arbres, modifications entraînant une réduction de 50 % de leur production de lignine et accroissant, en moyenne de 15 %, celle de la cellulose, d'où une quantité relative plus importante de « pulpe » pour un même poids de bois. En outre, comme ces arbres transgéniques sont généralement de 25 à 30 % plus grands que les espèces non-modifiées, cela entraîne un gain non

négligeable dans le rendement de fabrication de la pâte à papier. On manque, il est vrai, de recul pour juger de l'évolution de ces forêts transgéniques.

Dans le même registre, la transgénèse végétale a permis d'obtenir, du moins au stade expérimental, une assez grande variété de plantes utilisables en biorémediation, en les rendant capables d'absorber divers métaux tels que : aluminium, cuivre, mercure et cadmium à partir des sols contaminés.

En résumé, si l'opinion générale des spécialistes est que, pour éviter les famines et la malnutrition au cours du siècle présent, nous devons désormais produire davantage d'aliments à partir de surfaces arables ou cultivables plus restreintes, et en utilisant à la fois moins d'irrigation, moins de travail, une moins grande consommation d'énergie et d'agents agrochimiques, il va nous falloir entrer délibérément dans ce que Swaminathan a appelé « la révolution verte permanente » (*evergreen revolution*, 2000). Cela signifie qu'il sera désormais nécessaire d'exploiter au maximum les avancées récentes dans le domaine de la biologie des plantes. Celles-ci sont rendues possibles par la génomique, la transgénèse, etc., leur objectif étant de faciliter la production de variétés qui recèlent un grand potentiel en matière de rendement, de résistance aux maladies et aux insectes et de tolérance aux stress, tels que la sécheresse, la salinité ou les conditions thermiques défavorables (Sasson et Elliott, 2004). C'est pourquoi la Biotechnologie a été et continuera à être, encadrée (bien entendu, par des mesures politiques locales et internationales), une voie d'approche essentielle pour tenter de résoudre les problèmes de la faim et de la malnutrition (Khush et G. Ma, 2004).

Mais les changements, voire ces bouleversements nécessaires, ne seront sans doute pas totalement dépourvus de risques, directs ou indirects, ainsi que nous l'avons évoqué. D'où la nécessité, pour la société, aux plans national et international, de pouvoir apprécier les mesures à arrêter en connaissance de cause. Cela implique un dialogue à plusieurs niveaux : biologistes, agriculteurs, médecins, nutritionnistes, sociologues et, bien entendu, industriels, politiques et représentants de la société civile.

II.2.4. L'ÉLEVAGE⁵, COMPOSANTE MAJEURE DE L'ALIMENTATION HUMAINE – PERSPECTIVE ET EFFETS SUR L'ENVIRONNEMENT

L'élevage constitue près de 40 % du produit intérieur brut de l'agriculture (au sens large du terme), au plan mondial, et fournit un tiers des

5. Cf. le rapport « Livestock's long shadow – Environmental issues and options (LEAD) » (2006).

protéines consommées par l'humanité. Il représente donc une composante majeure de l'activité humaine pour sa subsistance alimentaire normale et un remède possible à la sous-nutrition. L'impact qu'il exerce sur les conditions de vie, notamment au sein des pays en développement, est considérable ! Il suffit de rappeler qu'il emploie 1,3 milliards de personnes et permet à 1 milliard de celles qui sont atteintes par la pauvreté de subsister !

La croissance démographique mondiale et l'élévation moyenne des revenus dans le monde ont entraîné un accroissement rapide de la demande de viande, de lait et d'œufs au cours des dernières décennies. Si, dans les pays en développement, on a pu estimer à 26,7 kg/an la consommation carnée par les populations (avec des valeurs aussi faibles que 12,3 kg/an en Afrique subsaharienne), en revanche ces valeurs atteignent aujourd'hui une moyenne de 80 kg/an dans les pays développés (132,5 et 160 kg/an, aux États-Unis et en Océanie respectivement).

Le déficit mondial en viande et en lait devrait encore s'accroître du fait de l'amélioration du statut économique de nombreux pays (par exemple dans les pays émergents et certains pays en développement). Selon la FAO, la production de viande devrait être multipliée par 1,75 dans les pays en développement d'ici à 2020, contre 1,15 pour les pays riches (avec des valeurs de 2,0 et 1,05 respectivement pour la demande en lait).

En outre, le développement économique, joint à une urbanisation mondiale intensive, ont eu pour résultat que la production issue de l'élevage se déplace peu à peu de la campagne vers les zones urbaines et péri-urbaines. Elle se rapproche ainsi des consommateurs et est à l'origine d'un essor considérable de l'industrie agro-alimentaire. Ainsi, 80 % de la croissance du secteur est désormais le fait des systèmes industriels.

La nécessité de recourir à des productions de masse a entraîné une redistribution des espèces d'élevage ; cela s'est traduit par exemple, par une augmentation croissante dans la « production industrielle » de porcins et de volailles et par un certain ralentissement dans celle des bovins et des caprins. Enfin, et comme nous le verrons ci-après, une autre conséquence importante du développement des productions animales à l'échelle mondiale, est celle qu'entraîne ce développement sur l'environnement.

● *Recherche*

De très nombreux travaux ont été consacrés à la reproduction et à la sélection animales. La sélection de races animales plus robustes, notamment moins sensibles aux maladies infectieuses, commence à tirer parti d'une

meilleure connaissance du patrimoine génétique des espèces où s'opèrent ces sélections.

Des connaissances sur les génomes de 4 espèces d'intérêt agronomique majeur ont d'ores et déjà été obtenues : il s'agit des bovins, du porc, de la poule et... de la truite arc en ciel. Plusieurs gènes de résistance aux maladies ont été identifiés chez les poissons. Des gènes codant pour des protéines impliquées dans le pouvoir fécondant des spermatozoïdes (ovins, porcins, équins...) ont également été caractérisés (INRA : lettre n° 14, mai 2006). La transgénèse animale est pratiquée depuis de nombreuses années (cf. rapport Académie des sciences – CADAS « Les techniques de transgénèse en agriculture », n° 2, octobre 1993, Tec et Doc) mais, jusqu'à présent, sans déboucher sur des applications d'intérêt agronomique notable.

En revanche, grâce aux techniques moléculaires, le diagnostic et les connaissances de l'épidémiologie des maladies infectieuses animales (PPCB, peste équine, fièvre catarrhale du mouton, fièvre aphteuse, etc.) ont connu d'importants perfectionnements au cours de ces dix dernières années. Ainsi, dans les pays et régions disposant des équipements adéquats, la technique PCR (*polymérase chain reaction*) est particulièrement adaptée, dans la mesure où elle peut, (du moins dans certains cas), être réalisée à partir de prélèvements séchés. Cela permet souvent d'éviter d'avoir recours à une chaîne du froid pour la conservation des prélèvements devant conduire à l'identification des agents pathogènes lors d'épizooties frappant les pays en développement.

De surcroît, le séquençage des produits d'amplification, résultant de l'application de la technique PCR sur des échantillons d'animaux malades, permet aujourd'hui une identification beaucoup plus précise des agents pathogènes.

L'art vétérinaire s'est enrichi d'une palette étendue de vaccins dont la liste ne peut être évoquée ici. Les derniers développements de la recherche concernent, d'une manière générale : les vaccins de nouvelle génération (vaccins produits à partir d'antigènes purifiés, vaccins recombinants, etc.), la résistance génétique aux maladies, les outils de diagnostic sanitaire... Dans les pays du sud, les priorités sont l'épidémio-surveillance et l'épidémiologie dans le cadre de réseaux internationaux. Malheureusement, la pauvreté, la précarité des approvisionnements et la déficience des encadrements techniques ou vétérinaires conduisent, encore trop souvent, à la résurgence épidémique de maladies ou à la pullulation des ravageurs (comme cela s'est avéré récemment avec les criquets, en Afrique de l'Ouest). Or, dans les pays du sud, les pertes consécutives (aux parasitoses notamment), continuent d'affecter, parfois de façon très élevée, les ressources issues de l'élevage (pertes pouvant atteindre 20 % du cheptel).

- *Élevage et environnement*

Si, comme nous l'avons vu, l'élevage joue (de fait depuis le néolithique) et ne cessera de jouer un rôle prépondérant dans la subsistance alimentaire de l'homme, avec une tendance accrue vers la grande production et la grande distribution, il est en revanche loin d'être dépourvu de conséquences, souvent très négatives sur l'environnement. Celles-ci sont de diverses natures.

Rappelons, en premier lieu, que le pâturage occupe, selon des estimations récentes, plus d'un quart de la surface émergée du globe et que la production fourragère s'étend sur environ 1/3 de toutes les terres arables ! Cette extension qui devrait encore s'accroître, a souvent pour corollaire une déforestation intensive et une certaine dégradation des sols. Par ailleurs, l'élevage intervient de façon non négligeable dans le réchauffement climatique. Ainsi, selon la FAO, il serait responsable de 18 % des gaz à effet de serre, de 9 % des émissions de CO₂ et surtout de 37 % des émissions de méthane (CH₄) consécutives à l'accumulation des lisiers (porcins) et des fermentations entériques des ruminants. On attribue également à l'élevage la responsabilité des émissions en oxyde d'azote (N₂O), pour 64 % ainsi qu'en ammoniac (64 %), émissions susceptibles d'entraîner des pluies acides.

Par ailleurs, la production animale est grande consommatrice en eau (cultures fourragères) dont elle peut causer, au surplus, diverses pollutions (déchets animaux, engrais, pesticides).

Diverses mesures s'imposent donc pour réduire les impacts environnementaux de l'élevage et des activités qui y sont associées (pâturages, cultures des plantes fourragères, etc.). Elles reposent, pour l'essentiel, sur : la restauration des terres endommagées par une meilleure gestion des pâturages, une réduction des émissions des gaz à effet de serre (déforestation, dégradation des pâturages) et sur une meilleure gestion des déchets animaux notamment dans les unités de production industrielle pour éviter la pollution de l'eau. S'impose enfin une meilleure protection de la biodiversité (animale) des zones vierges.

- *Association Agriculture-Élevage*

Un intérêt croissant se porte (cf. le rapport de l'IAC⁶ sur l'agriculture en France), sur les pratiques associant l'agriculture et l'élevage. L'objectif visé est une gestion intégrée de l'ensemble des éléments du milieu (sol, eau,

6. IAC : Inter-Academy Panel Council : Instance internationale représentant en quelque sorte le Conseil stratégique et décisionnel d'IAP « Inter-Academy Panel » lequel regroupe plus de 80 académies des sciences.

nutriments, biodiversité végétale et animale) dans le but de renouveler les ressources, de limiter les atteintes à l'environnement et d'obtenir des produits en quantité mais aussi de qualité suffisante ; tout cela dans des conditions telles que les coûts de production soient acceptables... Ces objectifs correspondent au principe de ce que l'on dénomme désormais la « Révolution doublement verte ». En d'autres termes, il s'agit ici de « concilier les objectifs de préservation de l'environnement, de productivité et de cohérence avec les dynamiques sociales locales » (cf. rapport RST de l'Académie des sciences, n° 21, « Sciences et pays en développement – L'Afrique sub-saharienne », p. 138, EDP Sciences (2006)).

En Afrique, notamment, où il est souvent nécessaire de lutter contre la sous-nutrition et d'améliorer la productivité agricole, le comité scientifique international de l'IAC, à la suite de nombreuses études et enquêtes locales, a suggéré plusieurs systèmes d'association intégrée d'agriculture et d'élevage susceptibles de répondre à ces critères. Ainsi ont été préconisés, selon les régions concernées :

- un système intégrant la culture du maïs, en association avec celle du coton et avec l'élevage ;
- le système céréales/plantes à racines (maïs, sorgho, millet, cassava, légumineuses), associé à l'élevage ;
- ou encore, l'association d'un système irrigué pour la culture dominante du riz et du coton, avec des cultures maraîchères et avec l'élevage (bétail, aviculture...).

On retiendra de ce chapitre que de nombreux systèmes actuels de production animale en Afrique ne paraissent plus « durables ». Outre la sélection et la santé animale, la recherche doit porter sur l'intégration de l'élevage et de l'agriculture, là où celle-ci est possible avec utilisation des sous-produits agricoles. En ce qui concerne l'élevage transhumant, l'objectif des recherches est surtout la restauration et l'amélioration des pâturages, avec un rôle accru des sciences sociales (géographique, anthropologie, économie...)⁷.

7. Tout cela milite, une fois de plus, pour une meilleure coordination de la recherche agronomique, notamment en Afrique. À cet égard, le nouveau partenariat pour le développement de l'Afrique, le NEPAD, à travers sa composante agricole, le CAADP (*Comprehensive Africa Agriculture Development Program*), en liaison avec la FAO, le FARA (Forum Africain de Recherche Agronomique), la Banque mondiale, la Banque africaine de développement et le GCIAR (*Consultation Group for International Agricultural Research*) devraient pouvoir contribuer à mettre en œuvre des procédures nouvelles d'élevage mieux adaptées à l'environnement et aux besoins locaux.

II.3. ENVIRONNEMENT ÉNERGIES BIODIVERSITÉ

II.3.1. DÉFIS ÉNERGÉTIQUES – EFFETS DE SERRE – ÉNERGIES RENOUVELABLES – BIOCARBURANTS

II.3.1.1. Défis énergétiques – Changements climatiques

En février 2007, le GIEC (groupe interorganismes d'experts sur le climat) conjointement à l'IPCC (*Intergovernmental Panel on Climate Change*) présentait ses conclusions générales devant l'Académie des sciences, à Paris. Ce document confirmait que nous sommes entrés dans une ère de changement climatique dont l'amplitude devrait aller en augmentant et documentait le rôle qu'avaient joué, au cours de ces trente dernières années, les émissions de gaz à effet de serre (GES) issus de l'usage des combustibles fossiles.

Personne ne met en cause la forte montée des températures moyennes mondiales. La vraie question est : « Dans quelle mesure cette élévation de température est-elle due à l'activité de l'homme, à des facteurs naturels ou à la conjonction de ces deux paramètres ? » Que des facteurs, indépendants de l'homme, contribuent au réchauffement climatique est suggéré par les observations concernant la fonte des glaciers au quaternaire. On en a imputé la cause à des fluctuations de l'activité solaire, à un effet de serre « naturel » et, plus récemment, à l'effet conjugué de l'activité volcanique (et, il est vrai, des aérosols !). On n'est toutefois pas en mesure de dire si ces causes « naturelles » sont seules responsables des variations observées jusqu'en 1975.

Après 1975, on a assisté à un changement climatique abrupt. Les spécialistes en voient les manifestations (ou les conséquences) dans l'élévation plus

rapide observée aujourd'hui de la température moyenne au niveau mondial, dans la survenue d'une série d'événements géochimiques brutaux : canicule, sécheresses ou inondations apparaissant dans des pays jusqu'ici tempérés, ainsi que dans la fréquence accrue des tempêtes et cyclones, le recul de nombreux glaciers de montagne, la diminution de la banquise et du volume de glace des calottes glaciaires. Pour la plupart des spécialistes, sinon pour tous, ces phénomènes sont difficilement explicables sans invoquer un effet de serre additionnel lié aux activités humaines et, notamment, à la production accélérée des GES, résultant d'une consommation accrue des combustibles fossiles. En effet, depuis le milieu de la décennie 1970, les émissions annuelles des GES ont augmenté de 50 % (et un peu plus pour le CO₂ provenant des combustibles fossiles). On estime que la production de CO₂ atteint environ 30 Gt (gigatonnes !). Les autres GES importants proviennent de l'agriculture : il s'agit du méthane et des oxydes d'azote et résultent des déforestations massives (qui occasionnent aussi, bien entendu, une élévation du niveau en CO₂).

On estime que, d'ici à 2050, les émissions annuelles de CO₂, atteindront des valeurs comprises entre 50 et 60 Gt. Cela devrait résulter, d'une part, du fait que certains grands pays industrialisés envisagent de satisfaire à une demande énergétique accrue des prochaines décennies au moyen de grandes centrales thermiques traditionnelles au charbon et, d'autre part, de ce que les transports (personnes et marchandises) consommeront encore, et pendant longtemps, des produits pétroliers. Selon le département de l'énergie (DOE) des États-Unis, la consommation d'électricité ferait plus que doubler d'ici 2030 (avec une consommation voisine importante dans des pays hors OCDE).

La consommation annuelle mondiale d'énergie est estimée, aujourd'hui, à 10 milliards de tonnes en « équivalents pétrole » (ou 10 Gtep). Elle devrait s'élever jusqu'à 15 Gtep en 2030 et 22 Gtep en 2050, si aucune mesure n'est prise au niveau mondial, d'autant que les grands pays émergents (Chine, Inde, Brésil) connaissent une croissance économique importante et sont aussi les plus peuplés de la planète (ils ne participent pas au protocole de Kyoto et feront très vraisemblablement appel à leurs importantes réserves de charbon).

Parmi les mesures envisagées, notamment par les pays signataires du protocole de Kyoto, figurent des économies dans la consommation d'énergie provenant des combustibles fossiles, le captage et le stockage du CO₂, mais aussi la diversification des sources énergétiques donnant une place plus importante aux énergies renouvelables peu ou non émettrices de GES. Avant d'en discuter, du moins schématiquement, il faut être conscient du fait que « *quoi qu'on fasse, il est déjà trop tard pour prévenir les premières évolutions climatiques*

*dont les manifestations ont déjà été observées et dont les développements sont attendus d'ici 2020 » (in *Énergie 2007-2050. Les choix et les pièges*, Académie des Sciences, Bernard Tissot et coll., tome X, 2007).*

En ce qui concerne les économies énergétiques, l'Agence internationale de l'Énergie (AIE) a estimé récemment que le niveau global d'économies réalisables d'ici 2050 pourrait se situer entre 15 et 35 % de la consommation mondiale actuelle.

À cet égard, d'importantes économies énergétiques peuvent être réalisées dans le secteur industriel et tertiaire qui, dans les pays « riches », représente jusqu'à 60 % de la consommation d'électricité. Ces économies (sur lesquelles nous ne nous étendrons pas compte tenu de la préoccupation générale du présent ouvrage) concernent surtout le chauffage des locaux, la construction des bâtiments, l'isolation thermique et les transports terrestres.

En ce qui concerne le captage et le stockage du CO₂ ils constituent, selon les experts, la seule voie permettant d'assurer un relais possible des produits pétroliers par le charbon, en permettant son utilisation durable (c'est-à-dire en réduisant les effets délétères de cette filière sur l'environnement). Or, comme on l'a vu, la production d'électricité, du moins les trois-quarts d'entre elle dans les pays hors OCDE, dérivera en toute probabilité du charbon, même si l'électricité nucléaire y contribuera également. Compte tenu de ce que les émissions mondiales de CO₂, dues aux combustibles fossiles dépassent 25 milliards de tonnes et devraient atteindre 50 milliards en 2050, on a calculé qu'il faudrait capturer 10 à 20 milliards de tonnes/an de CO₂ et les stocker pendant plusieurs siècles ! (Les essais réalisés actuellement en Mer du Nord et au Canada n'en concernent que 1 à 2 milliards par an). En outre les problèmes que pose l'injection du CO₂ dans les couches géologiques profondes (porosité des roches, réactivité géochimique, effets du P.H., étanchéité) sont loin d'être résolus. L'injection du CO₂ en mer profonde peut avoir des effets très négatifs sur l'écosystème marin.

De toute manière, on estime que le stockage du CO₂ ne pourra être envisageable qu'au voisinage de 2030.

II.3.1.2. Énergies non émettrices de CO₂

Si l'on se tourne, à présent, vers les formes d'énergies susceptibles de générer de l'électricité sans émission de gaz carbonique, elles sont essentiellement de deux types : l'énergie nucléaire et les énergies renouvelables, à quoi il convient d'ajouter, mais pour une échéance assez lointaine, ce nouveau vecteur

d'énergie stockable et propre qui est l'hydrogène lequel serait utilisable pour les transports (moteur thermique ou pile à combustible). L'énergie nucléaire peut délivrer de l'énergie électrique en quantité considérable. Les réacteurs à neutrons thermiques ont une durée de 30 ans, en passe d'être portée à 40 voire 60 ans et les réserves d'uranium 235 sont de l'ordre du siècle. De nouvelles générations de réacteurs à uranium 238, réacteurs à neutrons rapides, sont attendues au cours de ce demi-siècle. Mais les problèmes soulevés par l'acceptation de cette source d'énergie demeurent. Sans nous étendre, ils incluent un investissement très important par rapport à celui d'une centrale thermique, le sort des déchets radioactifs, le risque de prolifération des armes nucléaires et l'opposition manifestée par une partie de l'opinion au nom de la défense de l'environnement. L'Allemagne et les pays scandinaves ont prévu un plan de fermeture définitive des réacteurs existants s'étalant sur une période de 30 ans mais les risques écologiques sérieux posés par l'utilisation des centrales thermiques classiques (charbon, gaz naturel) pourraient amener ces pays à revoir ce calendrier (B. Tissot et coll. déjà cité).

II.3.1.3. Énergies renouvelables

En dehors des sources d'électricité ne produisant pas de GES, telles que « l'hydroélectrique » et le « nucléaire », on songe de plus en plus fréquemment à celles qui dérivent des énergies renouvelables. Ici ce sont les énergies solaire et éolienne sur lesquelles on mise le plus souvent pour répondre à une demande, à la fois « concentrée » et croissante d'électricité. Le recours à ces formes d'énergies souffre cependant de leur caractère intermittent (vent insuffisamment fort dans le cas des éoliennes, vent et nuages pour l'autre) de sorte que leur utilisation nécessite que soient développés dans l'avenir, des procédés permettant de stocker l'électricité, sinon sur une grande échelle, comme on sait le faire pour l'énergie produite de nuit par les centrales nucléaires, du moins à une échelle moyenne (ce qui n'est pas encore très au point).

● *Photovoltaïque*

Toutefois, en ce qui concerne l'utilisation de l'énergie photovoltaïque, si les coûts d'installation et l'entretien sont à coup sûr des contraintes pour les pays en développement, on doit reconnaître qu'elle permet de fournir de petites quantités d'électricité dans les zones non raccordées au réseau central, ce qui permet par exemple d'installer une antenne médicale, de produire du froid pour la conservation des réactifs et notamment des vaccins, etc. (cf. Colloque COPED-UNESCO, *Énergie solaire et santé dans les pays en développement*, Académie des sciences, Éditions Lavoisier, collection Tec et Doc, 1998). Divers pays commencent à accroître sensiblement leur équipement en panneaux solaires.

- *Biomasse*

La biomasse intervient déjà de façon non négligeable du fait de son utilisation traditionnelle, celle du bois de chauffe. Elle correspond de ce fait à 10 % de la demande énergétique mondiale. C'est là une forme d'utilisation « directe » qui devrait perdurer, notamment dans les pays à revenus modestes disposant de ressources forestières, mais elle n'est pas sans poser des problèmes d'ordre écologique (déforestation).

Par ailleurs, depuis plus d'une cinquantaine d'années, des programmes importants ont été développés pour convertir la biomasse cultivée en biocarburants. Il s'agit, par exemple, des carburants dits de « première génération » produits à partir de cultures oléagineuses dont les graines (colza, tournesol) fournissent une huile directement utilisable dans les véhicules de transport agricole ou après transformation (moteurs diesel). Comme on le sait, l'éthanol peut également être obtenu par fermentation à partir des céréales ou à partir de la canne à sucre (Brésil). Toutefois, hormis ce dernier cas de figure dont le bilan énergétique est satisfaisant, des réserves sérieuses sont exprimées par divers experts quant au rendement global lié à la fourniture d'énergie à partir des autres formes de biomasse cultivée. En outre, dans le contexte de crise alimentaire actuel, d'autres réserves sérieuses commencent à s'exprimer.

- « *Carburant contre aliment* » (*fuel versus food*)

En effet, un risque de portée mondiale semble se dessiner à ce propos : c'est celui de la compétition qui est en train de croître entre production vivrière et fourniture de carburants (*fuel versus food*) et l'on s'achemine de plus en plus vers un arbitrage concernant l'utilisation des ressources agricoles entre l'alimentation, l'énergie et l'industrie. Le problème devrait devenir d'autant plus aigu que les surfaces cultivables qui demeurent disponibles pour produire des végétaux « énergétiques » face à une demande accrue pour le parc automobile et par l'industrie, sont très réduites à l'échelle planétaire. Elles ne correspondent qu'à environ 10 % des 1,5 milliard d'hectares cultivés aujourd'hui à l'échelle mondiale. D'où le danger de voir la production « énergétique » empiéter sur une production vivrière déjà insuffisante (voir II.2.1.2.).

Selon un récent article du journal *The Guardian* (29 août 2007) dont les conclusions ont été reprises par le journal *Le Monde*, ce même jour, la menace semble très sérieuse.

En effet, les États-Unis, plus gros exportateurs de maïs au monde, envisagent d'atteindre d'ici 2017, une production équivalente à 35 milliards de gallons d'énergie non fossile pour couvrir une partie des besoins liée au transport et pour réduire leur dépendance vis-à-vis des importations en pétrole.

On estime qu'au cours de l'année 2006, 20 % de toute la production de maïs des États-Unis a été convertie en éthanol (pour seulement 2 % des besoins des automobilistes !). Les prix du maïs exporté par les États-Unis ont doublé en à peine 10 mois et celui du blé a augmenté de près de 50 %. Une tendance accrue à convertir une part importante des plantes vivrières en biocarburants se manifeste également dans les grands pays de transition (Chine, Inde) mais aussi en Europe, au Japon, en Afrique du Sud. Déjà les prix des denrées alimentaires sont en hausse très significative. Toujours, selon les sources citées plus haut, les prix de la nourriture en Inde ont connu un accroissement de 11 % en un an. En Afrique du Sud, au Mexique et en Chine des augmentations plus importantes encore ont été observées, notamment dans les denrées alimentaires animales dépendant directement de l'agriculture. Or il faut rappeler que le nombre de personnes souffrant de dénutrition atteint, au plan mondial, 850 millions (cf. le chapitre II.2 « Nourrir la planète »).

En résumé, l'utilisation de plantes vivrières telles que le blé, le maïs, la betterave, le colza et même la canne à sucre à des fins « énergétiques » comporte un risque non négligeable de compétition avec leur rôle traditionnel dans la chaîne alimentaire. Une autre forme de compétition s'installerait d'ailleurs entre l'usage de l'eau pour les cultures alimentaires et pour la production de biocarburants. Seule la conversion de la canne à sucre est assortie d'une bonne efficacité énergétique (rapport entre l'énergie produite sous la forme de biocarburant et l'énergie dépensée : production de la plante et conversion), celle-ci étant comprise entre 6,5 et 7,5. Ces valeurs sont beaucoup plus faibles avec les autres cultures (de l'ordre de 1,3 à 1,7).

Biocarburants de deuxième génération

Des efforts sont donc investis par les chercheurs en vue de produire, à une échelle suffisante, des biocarburants de 2^e génération, biocarburants dont l'acceptabilité par la société serait, sans doute, supérieure à celle de la conversion de plantes cultivées de valeur nutritive.

En effet, l'utilisation de l'ensemble de la biomasse ligno-cellulosique pourrait privilégier des terres peu favorables à la production vivrière. On pourra également utiliser des déchets agricoles ou sylvicoles tels que : paille, sciure de bois. Les conversions envisagées conduisent généralement à du glucose, obtenu par hydrolyse enzymatique et transformé après coup en éthanol par fermentation (levures).

Une autre voie réside dans la gazéification de la biomasse ligno-cellulosique ($\text{CO} + \text{H}_2$) suivie de synthèses chimiques conduisant à divers carburants.

Il a également été envisagé de se tourner vers des plantes pérennes telles que les fétuques ou la canne de Provence. Elles ne nécessitent pas d'irrigation et ont un effet bénéfique sur la qualité des sols.

Si la conversion de la ligno-cellulose constitue, à n'en pas douter, une voie prometteuse en ce qui concerne l'apport bio-énergétique du futur, apport qui de toute manière ne demeurera que partiel, des recherches nouvelles (ex. : génétique visant à modifier la composition des produits ligno-cellulosiques) et des progrès techniques vont devoir être réalisés pour atteindre à des transformations suffisamment économiques.

II.3.2. BIODIVERSITÉ

II.3.2.1. Connaissance et protection de la biodiversité

II.3.2.1.1. Données générales – Menaces et préoccupations pour un patrimoine commun

Parmi les grandes crises qui menacent aujourd'hui l'environnement, pris dans son acception générale, celle qui atteint la biodiversité est l'une des plus sévères, celle en tout cas dont les effets sur le développement durable sont déjà les plus marqués.

Le mot « biodiversité » est d'un emploi récent. Il fut introduit dans les années 60, par le grand systématicien américain, E.O. Wilson. Se préoccuper de cette biodiversité est une nécessité absolue, nécessité dont le caractère impérieux peut ne pas apparaître immédiatement mais dont la population du globe commence à prendre conscience. Les raisons en sont multiples. Ainsi les écosystèmes terrestres et marins fournissent, comme chacun sait, de nombreuses ressources (telles que céréales, fibres textiles, etc.). Leur bon fonctionnement qui conditionne la fertilité des sols agricoles et l'absorption de CO₂ mais aussi leur stabilité sont d'une importance vitale, et l'actualité illustre combien le fait d'attenter à cette stabilité des systèmes peut causer une multitude de perturbations telles que : crues, tsunamis, raz-de-marée, voire diminuer la résistance aux maladies émergentes, aux invasions biologiques de toute nature ou encore à l'action des ravageurs des cultures.

Or, pour ne considérer la question que dans ses grandes lignes, deux écosystèmes géographiques planétaires méritent ici une attention particulière : l'écosystème forestier mondial dont l'Amazonie est le plus grand et l'écosystème océanique. L'Amazonie est, en effet, une des régions du globe

parmi les plus boisées. Selon des études récentes on a dénombré, par exemple en Guyane, 1 200 espèces d'arbres contre moins d'une centaine en Europe de l'Ouest. Or la masse de carbone stockée dans ces arbres est énorme, elle avoisine 10 gigatonnes. La forêt amazonienne qui, avec les autres forêts tropicales, héberge la moitié des espèces vivantes, joue également un rôle majeur en tant que régulateur climatique. Les menaces qui pèsent sur ce véritable « poumon planétaire » sont connues : elles sont dues à une surexploitation du bois, aux activités minières, à la construction de barrages et parfois à un défrichage à grande échelle pour fournir des terres agricoles. Le gouvernement brésilien fait pourtant de gros efforts pour protéger cette immense ressource forestière (un tiers de la région amazonienne est protégé).

Les océans constituent un autre écosystème mondial, riche d'une grande variété d'espèces (environ 200 000) mais particulièrement menacé par les activités anthropogéniques. La diversité biologique y souffre de l'effet des pollutions, de l'accroissement du trafic maritime (proche d'un facteur 5 depuis 50 ans), ainsi que des prélèvements halieutiques trop intensifs. Les océans servent trop souvent de réceptacles pour les déchets de l'activité humaine, et subissent des effets d'eutrophisation au niveau des estuaires (nitrates, phosphates). Un autre facteur de la détérioration biologique, et non des moindres, est d'ailleurs l'augmentation de la population humaine sur les côtes ! On estime qu'à l'horizon 2025, 75 % des hommes vivront sur une bande côtière de 100 km de large, avec une augmentation de 15 % de la population du globe en moins de 20 ans. Les conséquences sont souvent désastreuses. Ainsi 50 à 90 % des grands poissons prédateurs (dont le thon) ont disparu, progressivement dominés par des individus de tailles de plus en plus petites.

• *Les effets du réchauffement climatique*

Mais d'autres menaces pèsent déjà en partie, ou se profilent dangereusement, sur la biodiversité en général. Elles sont liées, chacun le sait, au réchauffement climatique dont l'origine, nous disent les spécialistes du Groupe intergouvernemental d'experts sur le climat (GIEC) qui se réunissait il y a à peine quelques mois, est pour une large part due ou associée aux activités humaines. Le public est en effet familier avec les alarmes de « l'effet de serre » attribuable à une consommation accrue du charbon et des hydrocarbures. L'émergence économique des pays à très fortes densités de population (Chine, Inde, etc.) si elle doit être saluée par tous, doit rendre vigilant en ce qui concerne les problèmes de consommation énergétique. Certains modèles prévoient, vers la fin du XXI^e siècle, un réchauffement planétaire compris entre 1,5 et 5,8 °C et l'on sait que ce phénomène se fait déjà sentir au niveau des zones glacières des pôles.

Les effets du réchauffement sur la répartition géographique des insectes sont déjà patents, avec une migration des lépidoptères, coléoptères, libellules vers des climats moins chauds.

En ce qui concerne les oiseaux, on possède des données précises selon lesquelles près de la moitié des 435 espèces européennes inventoriées ont migré vers le Nord (dont la fameuse cigogne blanche).

Ce même déplacement vers des zones géographiques plus tempérées que celles des habitats classiques concerne également les poissons (lotte, cabillaud) tandis que d'autres espèces (raie, carrelet) gagnent des eaux plus profondes. Mêmes observations pour les déplacements géographiques vers des formes tempérées d'autres espèces (sardines, anchois...). On prévoit des perturbations non moins importantes liées aux effets géo-climatiques chez les végétaux. Dans le même registre, mais avec les interventions malencontreuses de l'homme, il faut inscrire les multiples cas de pollutions terrestres (seneçon du Cap), ou marines (macro-algues).

- *Urbanisation, déforestation, agriculture extensive*

Enfin, et d'une manière générale d'ailleurs, la gestion des territoires par les hommes peut souvent, si elle n'est pas raisonnée et raisonnable, devenir un facteur négatif pour les habitats biologiques naturels. Il n'est que de songer à l'expansion considérable des villes et surtout des mégalopoles, à la construction de grandes voies de communication ou, sur un autre plan, à une exploitation irraisonnée du bois, c'est-à-dire sans prendre soin de la gestion équilibrée des espèces d'arbres et des renouvellements des forêts. Chaque année 3,4 milliards de mètres cubes de bois sont exploités, sans parler du formidable problème de l'eau potable. Des millions de personnes dans le monde n'y ont pas accès. Symétriquement, si l'on peut dire, l'agriculture, pourtant indispensable, est un gouffre qui engloutit à lui seul près de 70 % de la consommation mondiale de l'eau, ressource vitale, bien sûr, pour la biodiversité. Si l'on totalise les facteurs qui menacent la biodiversité et comme la fait l'UICN (l'Union internationale pour la conservation de la Nature), plus de 3 600 espèces végétales et 3 500 espèces de vertébrés (dont un quart des espèces de mammifères) seraient ainsi menacées de disparition !

- *Prises de position et mesures internationales*

Les mesures mises en place au plan international pour protéger la Biodiversité sont jugées par de nombreux spécialistes comme insuffisantes. Elles n'en sont pas moins de grande ampleur. Ainsi l'Europe s'est-elle engagée à diminuer de moitié d'ici à 2010 la perte de sa biodiversité. De nombreux parcs naturels se développent (en France, près d'une cinquantaine). Le programme,

lancé par l'UNESCO il y a plus d'une trentaine d'années, « l'homme et la biosphère », a permis de créer près de 500 sites protégés au sein d'une centaine de pays.

De nombreuses conférences internationales portant sur le thème général « environnement et développement durable » incluant une importante composante biologique se sont succédé depuis le Sommet de Rio en 1992, parmi lesquelles il convient de citer les engagements dénommés « objectifs du millénaire pour le développement (*Millenium Development Goals*) ». Ceux-ci ont largement pris en compte, eux-aussi, le problème de la biodiversité.

En 2005, la communauté scientifique lançait un appel visant à mettre en place un mécanisme international d'expertises scientifiques intitulé IMOSEB (*International Mechanism of scientific expertise on Biodiversity*) qui fut soutenu par le président Chirac lors de la conférence internationale sur la biodiversité de l'UNESCO. En octobre de la même année, avait lieu, précisément sur ce thème, une autre réunion au Mexique organisée par le comité interdisciplinaire DIVERSITAS, affilié à l'ICSU (le Conseil international pour la Science).

II.3.2.1.2. La variété des espèces vivantes – une exploration inachevée

Mais, que sait-on précisément de la biodiversité ? Quelles sont les données scientifiques dont nous disposons concernant le nombre et la variété des espèces vivantes ? Comment la biologie moderne appréhende-t-elle leurs relations au plan évolutif et que peut-elle aujourd'hui pour concourir à une meilleure conservation des espèces, à la poursuite de leur inventaire et à leur protection ? La Biologie moléculaire et la génomique ont-elles « leur mot à dire » en cette affaire ? C'est ce que nous nous proposons à présent d'examiner.

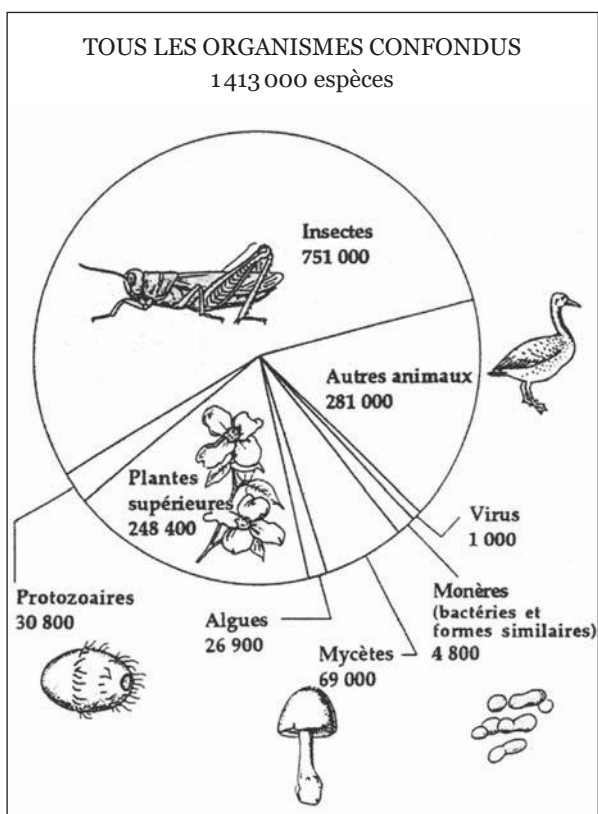
La Science est redevable aux taxonomistes et aux systématiciens de s'être penchés, depuis des temps très reculés, sur la diversité des espèces vivantes. Cette véritable quête du foisonnement de la vie a commencé dès l'antiquité, vers le IV^e siècle avant notre ère, avec les observations et premières classifications que nous devons à Aristote et à son élève Théophraste (cf. introduction). À mesure que la science progressait, et avec elle les moyens de communication, les explorations en contrées lointaines, l'instauration des jardins botaniques, les collections de spécimens rares, les muséums d'histoire naturelle, etc. le nombre d'espèces vivantes inventoriées et classées n'a fait qu'augmenter (cf. le rapport RST de l'Académie des sciences sur la systématique, 2005).

Si l'on s'en tient au monde des eucaryotes (nous verrons que celui des microbes connaît un renouveau particulier), le nombre total d'espèces « décrites et nommées » au stade présent serait de l'ordre de 1,7 million. On compte, parmi elles, environ 270 000 espèces de plantes supérieures, environ 150 000 espèces appartenant à des familles de végétaux moins évoluées : algues, champignons, et plus d'un million d'espèces animales, parmi lesquelles les arthropodes (qui incluent le règne des insectes), de très loin le plus représenté, et les vertébrés, comprenant seulement 45 000 espèces. Toutefois, pour impressionnant que peut apparaître l'aspect numérique de cet inventaire lequel représente l'aboutissement de décennies, voire de siècles de passionnants travaux, il appelle deux remarques importantes.

Fig. 8. Nombre d'espèces vivantes correspondantes aux divers types d'organismes actuellement identifiés (données 2002)

Cette figure est extraite d'un article de Michel Baguette, publié dans *Probio-revue*, n° 4 (2001), et reproduit dans « *Biologie-Géologie* » apbg, bulletin pédagogique trimestriel n° 3, p. 579 (2002).

Les données numériques proviennent d'E. Wilson, (1992). À l'heure actuelle, le nombre total d'espèces connues serait plus proche de 1700 000 (voir le texte).



En premier lieu, le nombre de 1,7 million est considéré par tous les taxonomistes comme très fortement sous-estimé ! On suppose, en effet, comme l'écrit par exemple Simon Tillier, directeur de l'équipe « Espèces et

Spéciation » au Muséum national d'Histoire naturelle : « qu'il y aurait entre 6 millions d'espèces... et peut-être 30, ce qui signifie que 70 à 95 % du vivant n'est pas encore répertorié ». Demeure, en effet, une énorme biodiversité qui échappe encore à toute description, celle qui est reléguée dans des écosystèmes auxquels l'accès est particulièrement difficile (ex. : les organismes vivant dans les sols ou les milieux marins, les parasites des plantes et des animaux, etc.). Chaque année, de l'ordre de 15 000 à 17 000 nouvelles espèces sont décrites. C'est à la fois considérable et bien peu si l'on prend en compte l'inventaire qui reste à dresser. À cet égard, il faut souligner qu'établir avec certitude l'existence d'une espèce nouvelle est loin d'être une tâche facile. Le risque de re-découvrir des espèces « synonymes » demeure grand. On estime, par exemple, que décrire une nouvelle espèce de phytoplancton d'une taille de 0,5 à 180 micromètres occupe une personne à plein temps pendant un an ! D'où les efforts qui sont désormais accomplis au niveau international pour la constitution de multiples réseaux de communication de données et d'échanges de spécimens ; un travail de titans où l'informatique joue désormais un rôle majeur.

II.3.2.1.3. Relations phylogénétiques – Comparaisons génomiques

La seconde remarque générale, évidente en quelque sorte, est que « décrire n'est pas connaître ». Connaître une espèce, en effet, c'est être informé de sa biologie, de sa distribution géographique, de son mode de vie, de son rôle dans l'écosystème, de son intérêt ou de son usage pour notre propre espèce. Un important aspect dans l'étude de la biodiversité réside dans ce que les spécialistes désignent du nom de phylogénie ou phylogenèse, terme savant inventé en 1894 par Haeckel et se référant aux relations entre espèces qui se sont établies au cours de l'évolution et qui ont donné lieu à l'existence de taxons. Dessiner ces arbres phylétiques (dendrogrammes) revêt en effet un grand intérêt à la fois pour faciliter la classification des espèces nouvellement décrites et établir si elles proviennent ou non du même ancêtre (groupe monophylétique) mais aussi pour conforter, infirmer certaines hypothèses, rendre compte de mécanismes de l'évolution, etc.

Pour atteindre cet objectif, les scientifiques ont longtemps fait appel à des critères de morphologie, d'anatomie comparée ou se sont tournés vers les degrés de compatibilité dans les croisements reproductifs, voire vers la comparaison des appareils reproducteurs. Mais c'est précisément à ce niveau des recherches que la biologie moléculaire, la génétique classique, et plus récemment, la génomique ont apporté de nouveaux éclairages parfois très saisissants.

Les techniques moléculaires et les bases de données offrent désormais un moyen d'examiner et de quantifier la biodiversité grâce à l'acquisition, au

stockage et à la comparaison de séquences linéaires d'acides aminés et de nucléotides provenant de différentes espèces. Les déductions que l'on peut tirer de la comparaison de ces séquences ne permettent pas seulement d'établir les « branchements dichotomiques » caractéristiques des « arbres d'évolution ». Elles fournissent des mesures quantitatives du degré de parenté phylogénétique et, par conséquent, des informations sur « l'antiquité » de lignages génétiquement distincts.

Les premiers grands succès, obtenus dans les approches moléculaires à la systématique, sont dus aux travaux pionniers du biologiste américain Carl Woese (1987) dans le domaine du monde microbien. Elles ont tiré parti des comparaisons de séquences de l'ARN appartenant à la petite sous-unité du ribosome (r-ARN), l'ARN 16S. Cet ARN est en effet relativement « conservé » c'est-à-dire que sa séquence globale a subi peu de changements au cours de l'évolution, même sur de longues périodes, tout en contenant un grand nombre de sites de variations (sur plus de 2 000 positions) ce qui facilite les caractérisations phylétiques.

● *Les Archaeas – L'apparition des eucaryotes*

Les études de C. Woese ont notamment révolutionné toutes nos conceptions sur les événements précoces de l'évolution. Elles ont en effet montré que, contrairement à la distinction standard impliquant l'existence de 5 règnes biologiques principaux : plantes, animaux, champignons, bactéries (Whittaker, 1969), les études moléculaires conduisaient désormais à considérer plutôt trois catégories, ou groupes ancestraux primaires : les eucaryotes, les bactéries et les Archaeas (Woese, 1990). Les Archaeas sont des formes de vie unicellulaires, intermédiaires entre les bactéries classiques et les eucaryotes. En particulier, leur ARN ribosomique se rapproche de celui des eucaryotes et leur ADN comporte parfois des introns. Les Archaeas (autrefois dénommées « Archebactéries ») comprennent notamment des bactéries dites « extrêmophiles », c'est-à-dire capables de vie en conditions extrêmes de température, de salinité, etc.

L'étude comparée des gènes codant pour le r-ARN 16S devait conduire à des conclusions inattendues. Par exemple, au lieu d'être issus, comme on le pensait jusqu'alors, d'une manifestation récente de l'évolution, les eucaryotes représentent un lignage qui est sans doute aussi vieux que celui des Archaeas et des eubactéries. Les lignages les plus anciens seraient représentés par des organismes dépourvus de mitochondries, d'appareils de golgi et de réseaux cytosquelettiques complexes (diplomonidés, microsporidés, trichomonidés). Leur aurait fait suite une série de rameaux indépendants de protistes, puis seraient apparus les règnes des champignons, des plantes

et des animaux ainsi que deux « groupements phylétiques » particuliers, les stramenopiles comprenant des algues rouges, puis vertes (voisines des plantes par leur chlorophylle) et les alvéolés (ciliés, dinoflagelles) incluant des formes photosynthétiques ou non. La séparation évolutive quasi simultanée de cet ensemble « plantes, animaux, stramenopiles et alvéolés » (parfois dénommé « couronne eucaryotique ») à partir des rameaux plus anciens, se serait produite il y a environ un milliard d'années et il est apparent que, de cet ensemble ou couronne eucaryotique, ce sont les plantes et les animaux qui partagent l'histoire la plus récente.

Bien d'autres inférences relatives à l'histoire de l'évolution ont été rendues possibles grâce à l'étude comparative des séquences des gènes codant pour les ARN ribosomiques. Elles sont trop nombreuses et trop spécifiques pour pouvoir être rapportées ici (cf. M.L. Sogin et G. Hinkle, in *Biodiversity II*, chapitre 8, p. 109, 1997 ed by M.L. Reaka Kudla, D.E. Wilson, and E.O. Wilson).

La connaissance qu'est venue fournir le séquençage partiel ou complet des génomes a également enrichi la « systématique », discipline jusqu'alors un peu délaissée. Par exemple, les biologistes ont procédé à une identification rapide des gènes transcrits (*rapid gene discovery*). Cette identification consiste en une obtention des séquences partielles de copies « c-ADN » clonées, provenant d'un vaste échantillonnage d'ARN « messagers », choisis au hasard. Ces séquences partielles, comprenant en général 200 à 400 paires de bases, sortes d'étiquettes moléculaires, sont désignées du nom d'EST (*expressed sequence tags*). La connaissance de ces EST peut être établie par des procédés de séquençage automatique et elle permet donc un repérage provisoire des gènes exprimés dans les cellules, tissus ou organismes entiers. Ces identifications sont ensuite confortées en consultant les bases de données où ont été préalablement décrites, et où sont conservées (Genbank, EMBL, Swiss Prot, etc.) les séquences en ADN et protéines obtenues dans divers laboratoires. De la connaissance de l'échantillonnage des gènes exprimés à partir de leur EST, on peut tirer des informations utiles permettant d'établir des comparaisons en matière de relations phylétiques (cf. C.J. Bult *et al.* ; C. Fields and J.-C. Venter, in *Biodiversity II*, chapitre 20, p. 289, 1997).

Si les programmes de séquençage par EST ont conduit à la découverte de nombreux gènes, les bases de données correspondantes ont cependant le défaut de ne pas contenir d'information sur les gènes qui sont peu transcrits ! Le seul moyen sûr d'accéder à la totalité des gènes reste donc la détermination de l'intégralité de la séquence du génome.

II.3.2.1.4. Génomique et Biodiversité végétale

En ce qui concerne les approches modernes à la diversité du règne végétal, et pour des raisons variées qui tiennent à la fois à des considérations purement scientifiques mais aussi horticoles ou agro-alimentaires, de gros progrès ont été réalisés. Rappelons au préalable que, chez les plantes à fonction chlorophyllienne, il existe trois types de génomes : nucléaire, mitochondrial et chloroplastique. L'organisation et le contenu génétique du génome des chloroplastes varient assez peu d'une espèce à l'autre avec une taille comprise entre 150 000 et 300 000 paires de bases. Les ADN chloroplastiques du tabac, du riz, du maïs et du pin ont été entièrement séquencés.

En revanche, on observe de grandes variations de tailles au sein des génomes mitochondriaux de plantes (de 200 à 1 000 kilobases). Les génomes nucléaires des plantes affichent, quant à eux, une grande plasticité. Les plantes sont généralement « diploïdes » comme les animaux (les cellules somatiques comprenant une copie mâle et femelle), mais leur ploïdie (nombre de copies de chromosomes) peut varier considérablement. On sait, par exemple, que de nombreuses plantes domestiquées à des fins agricoles ou horticoles sont souvent multiploïdes. Les tailles de leurs génomes varient dans de très grandes proportions, l'*Arabidopsis thaliana* par exemple, une dicotylédone de la famille des *Brassicacées* et qui représente le premier végétal dont le génome a été entièrement séquencé (en 2000), ne comprend dans son noyau que l'équivalent de 140 mégabases (millions de paires de bases) et de l'ordre de 25 000 gènes. Le génome nucléaire du riz (*Oriza sativa*) a une taille de 430 mégabases (et renferme environ 50 000 gènes), celui du maïs (*Zea maïcs*) atteint 2 500 mégabases (2,5 milliards de paires de bases), celui de l'orge 5 000 mégabases, la tulipe diploïde comprenant dans son patrimoine héréditaire 20 000 mégabases (20 milliards de paires de bases) !

Toutefois, ces différences sont souvent dues à l'existence d'un très grand nombre d'éléments mobiles (transposons) intercalés entre les gènes mais également à des duplications fréquentes de segments chromosomiques ou de gènes, ce qui entraîne la formation de groupes de gènes co-localisés à un même locus. Un autre phénomène de très grand intérêt ayant trait aux mécanismes de l'évolution, notamment chez les végétaux, est celui que l'on dénomme synténie.

En effet, il a été observé, surtout chez les céréales, dans le début des années 90, que l'ordre des gènes le long des chromosomes d'espèces différentes pouvait être conservé (on dit que la « synténie » des gènes est conservée). Ceci a conduit à un modèle de l'organisation des génomes de céréales dans

lequel les différents chromosomes des espèces sont distribués sur des cercles concentriques et alignés les uns par rapport aux autres en fonction de leurs homologies. Ce modèle permet, par exemple, de prédire la correspondance entre un segment de chromosome de blé ou de maïs et les chromosomes du riz ou du sorgho. Mais ce phénomène de transposition chromosomique de groupes de gènes alignés et de fonctions homologues, d'une espèce à une autre, a été observé par la suite chez les dicotylédones : ainsi, chacun des chromosomes de *Brassica oleracea* (chou) ou de *Brassica napus* (rutabaga et navet) peut être représenté par des segments homologues de chacun des chromosomes d'*Arabidopsis* ! On retrouve encore des segments synténiques entre *Arabidopsis* et la betterave, la pomme de terre, le tournesol ou l'amandier. Ces segments conservés, transposés d'une espèce à l'autre, sont très probablement la trace du génome ancestral des dicotylédones. Ainsi le concept de synténie ne présente pas seulement un grand intérêt pour comprendre l'évolution des génomes chez les végétaux ; il doit permettre de rechercher facilement un gène d'intérêt dans une espèce cultivée par rapport à l'espèce modèle (M. Delseny, *Curr. Opin. Plant Biol.*, 7, 126, 2004). Les génomes d'un très grand nombre d'espèces végétales commencent donc à être connus de façon complète ou partielle. En dehors de la plante modèle, *Arabidopsis* et de céréales majeures, telles que le riz et le maïs, citons l'orge, le millet, le sorgho, le blé mais également la lucerne, le coton ou encore le soja, la tomate ainsi que des arbres tels que le pommier, le peuplier, le pin, l'épicéa. On a pu établir qu'en 2005, les études de génomique structurale avaient porté, en ce qui concerne les végétaux, sur l'équivalent de 60 milliards de paires de bases dont l'ordonnement avait été établi. Un très grand nombre de gènes nouveaux ont été découverts dont l'étude a permis d'approfondir des processus aussi variés que, la croissance des plantes, la synthèse et le stockage des protéines dans les graines, la résistance aux virus, aux stress thermiques, à la sécheresse, aux herbicides...

II.3.2.1.5. Génomique et Biodiversité animale

Dans le règne animal et chez l'homme, la génomique est venue apporter également des éclairages complémentaires sur les degrés de conservation des gènes au cours de l'évolution et grâce à l'utilisation des modèles animaux, sur les mutations responsables de maladies génétiques, sur les gènes de susceptibilité ou de résistances aux maladies, sur les réseaux de régulation intervenant dans le développement des tissus mais aussi dans la mort cellulaire, la survenue des cancers, le vieillissement, etc. Les génomes des espèces suivantes ont été entièrement séquencés : nématode, drosophile, *Aedes aegyptii* (vecteur de parasite), souris mais les génomes de nombreux animaux d'élevage (ex. le porc) sont l'objet d'études très poussées. Rappelons enfin que le début du XXI^e siècle

a vu s'écrire une première version du génome humain ainsi que nous l'avons déjà signalé et commenté précédemment. La connaissance du génome humain ouvre, en effet, de grandes perspectives à la médecine du futur. Ce point a été évoqué dans certains des chapitres consacrés, par exemple, aux maladies génétiques et aux cancers ainsi qu'aux tentatives de thérapie génique.

II.3.2.1.6. Biodiversité des microorganismes – Métagénomique

Pourtant, c'est sans doute le règne des micro-organismes et notamment celui des bactéries ainsi que des virus qui a connu récemment les progrès les plus spectaculaires quant à l'exploration de sa biodiversité et aux apports correspondants de la génomique. En premier lieu, des centaines de génomes de bactéries ou d'*Archeas* ont été séquencés, fournissant des éclairages parfois très importants sur les causes de la virulence que manifestent certains de ces micro-organismes (ex. : formes pathogènes d'*E. coli*, *Mycobacterium tuberculosis*, *Mycobacterium lepre*) et sur de nouvelles stratégies vaccinales. La connaissance exhaustive des génomes est également une étape indispensable de la lutte contre les virus responsables de maladies émergentes (Ebola, fièvre de la vallée du Rift, etc.) ou de zoonoses très dangereuses (SIDA, grippe aviaire, SRAS, diverses infections respiratoires aiguës). L'étude des génomes viraux est souvent indispensable, en effet, pour établir une classification correcte mais aussi pour la mise au point de thérapies appropriées (SIDA).

Mais la génomique bactérienne et virale a été, dans ces dernières années, le siège d'une véritable révolution au plan méthodologique. Cette révolution représente une des formes les plus hardies et déjà les plus fructueuses dans l'approche moderne à la Biodiversité. En effet, « la diversité bactérienne est fantastique ; beaucoup plus grande que ne le laisse supposer le nombre d'espèces bactériennes identifiées par culture sur des milieux appropriés » (P. Vignais *in Science expérimentale et connaissance du vivant*, p. 268, éditions EDP Sciences, 2006).

L'explication de cet énorme déficit dans notre connaissance du « monde microbien » n'est devenue apparente que depuis peu : la proportion des bactéries cultivables, donc identifiables est en réalité extrêmement faible. Certaines d'entre elles croissent très lentement ou exigent, pour leur développement, des milieux d'une telle complexité que souvent on en ignore même la nature. Dans d'autres cas, il s'agit de bactéries vivant en « commensalisme » c'est-à-dire ne pouvant croître que dans des écosystèmes complexes où interviennent d'autres bactéries. Souvent il s'agit de bactéries anaérobies strictes qui ne sont isolables qu'avec des montages techniques assez lourds, ou encore « d'extrémophiles » exigeant des conditions très spéciales de température ou

d'osmolarité. Il résulte de tout ceci que nous ne connaissons qu'un très faible pourcentage des espèces microbiennes vivant sur notre planète, peut-être guère plus de 1 % !

C'est précisément pour s'attaquer à ce monde en grande partie inconnu qu'ont été imaginées (et appliquées avec succès) de nouvelles approches méthodologiques directement inspirées des techniques du séquençage génomique et connues sous le nom de « métagénomique, ou génomique environnementale ».

En général, on s'adresse à un échantillon naturel¹ hétérogène supposé contenir un très grand nombre d'espèces ; on extrait l'ADN de cet ensemble et on l'amplifie par la technique dite PCR (*Polymerase Chain Reaction*). Une fois amplifié, cet ADN global est séquencé et les données obtenues sont traitées à l'aide des ordinateurs en les comparant aux séquences caractéristiques d'espèces microbiennes déjà identifiées et stockées dans les bases de données. Bien entendu, la démarche métagénomique est également applicable au repérage d'espèces encore inconnues de protozoaires, de virus ou d'Archaeas.

Les réalisations qui sont à porter au crédit de la métagénomique sont assez nombreuses. Ainsi en 2004, J. Craig Venter et ses collaborateurs (*Science*, 304, 66, 2004) se sont attaqués à la biodiversité microbienne de la mer des Sargasses, au voisinage des Bermudes. Un total d'un milliard de paires de bases provenant de séquences non redondantes ont été caractérisées, annotées et analysées pour élucider leur contenu en gènes véritables, leur diversité et la relative abondance des organismes présents dans les échantillons prélevés. On a pu interpréter ces données de séquences comme provenant de 1800 espèces génomiques sur la base des relations entre séquences incluant 148 espèces de bactéries inconnues. Les auteurs ont identifié, dans ce travail, plus d'1,2 million de gènes inconnus jusqu'alors, dont 782 codant pour des photorécepteurs de type rhodopsine. Autre exemple : en 2006, E.F. Delong et coll. (*Science*, 311, 496, 2006) se sont attaqués à la biodiversité planctonique dans les eaux du Pacifique Nord.

Mais d'autres milieux complexes ont été l'objet d'investigation pour leur diversité en micro-organismes en ayant recours à la métagénomique. À titre d'illustration, divers travaux ont ainsi été consacrés à la microbiologie des sols (M.R. Rondon et coll., *Applied and Environmental Microbiology*, p. 2541, 2000 – V. Gewin, *Nature*, 439, 384, 2006). D'autres études ont porté sur la diversité des virus à ARN de la flore intestinale (Tao Zhang et coll., *Plos*

1. Échantillon de terre ; eaux d'un bassin d'épuration, eau de mer,...

Biology, 4, 108, 2006) ou sur des populations de bactériophages (M. Brettbart et coll., *J. of Bacteriol.*, 185, p. 6220, 2003).

L'étude des métagénomes a parfois permis de mettre en lumière des micro-organismes jouant un rôle jusque-là insoupçonné dans les cycles de l'azote (exemple des bactéries du genre *Anemox*), ou dans l'oxydation anaérobie du méthane (cas des *Archeas* du type ANME : S. J. Hallon et coll., *Science*, 305, 1457, 2005). Des voies nouvelles se trouvent ainsi tracées dans l'exploration des grands cycles biogéochimiques.

L'approche systématique et globale à la connaissance des populations microbiennes complexes telle que la permet l'utilisation de la biochimie, de la génomique et de la bioinformatique va, à n'en pas douter, enrichir considérablement notre connaissance de l'infiniment petit biologique avec des conséquences théoriques et pratiques insoupçonnées.

CONCLUSION

Très souvent, au cours de son histoire, la biologie s'est trouvée en adéquation avec la tendance générale, le style ou les préoccupations de l'époque.

« Science aimable » à l'époque des « Lumières », la biologie est souvent œuvre d'érudits, de philosophes, avocats d'un certain retour à la nature, avec une prédilection pour la botanique, les herbiers, les grandes collections de spécimens rares. L'inventaire des espèces végétales et animales, vivant dans des contrées lointaines, connaît une vogue sans précédent ! Le Jardin royal – l'ancien « jardin des herbes médicinales » – deviendra bientôt ce grand établissement que ne cessera d'être, par la suite, le Muséum national d'Histoire naturelle où s'exercera et s'épanouira la vie scientifique et où viendront peu à peu s'affirmer les grands naturalistes. Avec eux, vont naître d'ardents débats à une échelle qui dépassera vite celle du monde savant, dès l'instant qu'il sera question de l'origine des espèces sur la terre. L'évolutionnisme séduira ou révoltera, selon les esprits, leur inclination philosophique ou religieuse, son côté sulfureux ne laissant quiconque indifférent...

Mais prenons une autre époque, celle du Second Empire en France. On y verra l'éclosion d'une biologie nettement plus industrielle à mesure que son alliance avec la chimie deviendra plus manifeste. Pasteur ne sera pas que le célèbre adversaire de la génération spontanée. Ses travaux, tous ses travaux, seront marqués du sceau de l'application concrète et du désir de répondre à l'intérêt national (avant de s'adresser à l'humanité entière). Ainsi, s'emploiera-t-il à conserver les vins sans en altérer le bouquet, à améliorer la bière « française » (très inférieure, dixit Napoléon III, à la bière d'Outre-Rhin), à lutter contre les menaces qui pèsent sur le ver à soie, puis à protéger la société de ce temps des fièvres puerpérales, des septicémies post-opératoires, des zoonoses, bref, à établir les premières règles d'hygiène sociale avant d'en arriver, bien

sûr, à ce qui fera sa gloire : le développement des vaccinations. Tout cela teinté en filigrane d'un certain esprit d'opposition à l'Allemagne concurrente auquel succédera un désir avéré de revanche, au lendemain de Sedan ! Chez Pasteur, le citoyen n'est jamais loin du savant.

Chemin faisant, nous sommes dans les débuts de ce que l'on appellera plus tard les biotechnologies modernes. Déjà l'Industrie va faire sienne les théories et les méthodes pasteurienne, et pas seulement en France. Une bio-industrie des fermentations commence à prospérer. L'essor remarquable de l'enzymologie allemande accentuera encore le mouvement. Les premiers brevets fondés sur les sciences du vivant vont être déposés¹. Sans aller jusqu'à dire qu'elle s'identifie à une activité au service d'économies nationales concurrentes, la biologie, vers la fin du XIX^e siècle, se présente, par ses applications, comme l'héritière du positivisme et de l'industrialisme « Saint-Simonien ».

Un siècle plus tard, avec l'avènement de la biologie moléculaire, avec l'emprise grandissante de la génétique, puis avec les premières réalisations du génie génétique et de la transgénèse, la biologie, non seulement va désormais se hisser à l'avant-scène des sciences modernes mais, tout en enrichissant les biotechnologies d'inspiration médicale et agricole, elle va pénétrer dorénavant très profondément le champ du social et de l'éthique. On se souviendra sans doute des premiers débats, voire des réactions très vives qui ont accompagné, aux États-Unis et en Europe, les débuts du génie génétique, au point de susciter les premiers moratoires et les premières mesures de confinement obligatoire appliquées à la recherche dans le domaine des biosciences. Tout cela ne tardera pas à alimenter un champ nouveau de l'éthique des sciences. Le mot « bioéthique » sera désormais sur toutes les lèvres dépassant, parfois, par sa résonance, par l'adéquation que lui manifeste la société et l'étendue du champ recouvert, la déontologie strictement médicale, fortement interpellée néanmoins à la fin de la Seconde Guerre mondiale, depuis le procès de Nuremberg. D'un côté, par les promesses qu'elle laisse entrevoir au bénéfice de la médecine, de l'agriculture et de l'industrie mais, de l'autre, par les réserves, voire les oppositions qu'elle suscite, la biologie nouvelle, d'inspiration moléculaire et génétique, attire désormais le regard d'un public longtemps demeuré indifférent à ses avancées. Il est d'ailleurs manifeste que les plus grandes instances de l'État, un peu partout dans le monde, se soient peu à peu emparées du domaine ! Jamais le droit n'aura marqué autant d'intérêt pour la biologie ni le législateur promulgué autant de lois pour en fixer les limites d'application. Il n'est pas jusqu'aux sommets des grands pays industrialisés qui ne traitent régulièrement de l'acceptabilité sociale des biosciences – et des problèmes

1. Le tout premier par Pasteur lui-même...

nouveaux qu'elles soulèvent. Désormais les sciences du vivant – et la situation est encore plus marquée avec la recherche sur les cellules souches ou avec les plantes transgéniques, pour des raisons différentes il est vrai – vont se trouver « au cœur » de l'actualité et des médias. Un signe qui ne trompe pas en ces temps où prime, avant tout, la communication...

Mais – pour faire enfin écho au présent ouvrage – ce qui agite aujourd'hui les sociétés, les nations, le monde industriel et l'opinion d'une manière générale, c'est avant tout ce qui se rapporte aux grands problèmes de dimension planétaire. C'est aussi, par voie de conséquence, ce que recouvre le concept – volontiers incantatoire mais néanmoins très prégnant – de « développement durable ». Ici, il est vrai, la biologie n'est plus seule aux premières loges ! Toutes les disciplines des sciences et toutes les techniques qui s'y rapportent sont désormais sollicitées. Le monde, dans son acception politique, économique mais également dans sa dimension socio-éthique, se tourne en effet vers les sciences pour y trouver un nouvel appui. Comment assumer ce fameux développement qui engage l'homme pour plusieurs générations ? Quelles solutions apporter face aux aléas naturels et à ceux issus des actions souvent incontrôlées de l'espèce humaine ainsi qu'aux guerres, au terrorisme, à la surpopulation des villes, à l'imprévoyance coupable à l'égard des équilibres biologiques, à la production sans cesse grandissante des gaz à effet de serre ? Comment répondre enfin aux objectifs du millénaire si clairement énoncés à Johannesburg dans ce qu'ils ont de plus signifiants parce qu'ils s'adressent aux situations souvent les plus désespérées, celles qui ont pour nom : analphabétisme, dénutrition, mortalité maternelle et infantile ? Mais, si toutes les forces de la science et de l'ingénierie humaines sont concernées, les sciences de la vie devraient l'être plus que d'autres et au premier chef. Car, si la biologie n'est pas la seule science apte à analyser et à prévoir les risques et à proposer des remèdes, elle ne joue pas moins un rôle essentiel et central lorsqu'il s'agit de prendre en compte certains aspects parmi les plus marquants de la fragilité reconnue de la planète : celle qui menace la santé de l'homme et des animaux, porte atteinte à la biodiversité, laisse s'instaurer l'inégalité devant l'accès aux ressources vivrières, ou engage la durabilité et le renouvellement des écosystèmes.

Nous ne nous étendrons pas ici sur les apports effectifs ou attendus de la biologie dans ce nouveau contexte. Le livre y a fréquemment fait écho. Rarement, nous semble-t-il, la biologie n'a été plus en résonance avec son époque. Elle entre, en effet, dans une phase toute nouvelle qui devrait la rendre plus attentive que jamais aux espoirs mais aussi aux craintes d'une communauté

humaine appelée à se mesurer à des risques nouveaux, risques d'autant plus sérieux qu'ils revêtent souvent une échelle planétaire.

À cette biologie tournée vers les grandes questions du développement, vont être assignés deux combats qui vont peu à peu, pensons-nous, devenir indissociables. L'un n'est autre que de poursuivre celui, traditionnel, mais absolument capital, qui est propre à toute vraie science : il concerne la quête générale de la connaissance ; il se livre contre l'immensité de l'inconnu ; il tente ici de pénétrer les arcanes de la complexité du vivant. L'autre combat se veut désormais plus attentif aux grands défis du moment, donc plus solidaire de tout ce que la société doit s'employer à mettre en œuvre, dans l'espoir d'une évolution plus harmonieuse de son socle planétaire, une évolution plus raisonnable aussi, et plus juste, avec une vision moins égoïste de l'immédiat et en pensant plus souvent au futur...

BIBLIOGRAPHIE

OUVRAGES DE RÉFÉRENCE CORRESPONDANT AUX DIFFÉRENTS CHAPITRES

I – LE FABULEUX DESTIN DE LA BIOLOGIE

I.1. APERÇUS HISTORIQUES (seuls figurent ici les quelques ouvrages généraux ou revues dont nous nous sommes inspirés)

- Bernard Cl. : « Introduction à l'étude de la médecine expérimentale », (1865), J.-B. Baillière (préface par F. Dagognet), Garnier Flammarion, (1966)
- Buican D. : « La génétique et l'évolution », PUF, Que sais-je ?, (1986)
- Descartes R. : « Traité de l'homme », (1664)
- Giordan A. : « Histoire de la Biologie », 2 t., Paris, Techniques et documentation/Lavoisier
- Gros F. : « L'ingénierie du vivant », Odile Jacob, (1990)
- Guyenot E. : « Les sciences de la vie aux XVII^e et XVIII^e siècles : l'idée d'évolution », Paris, Albin Michel, (1941)
- Harvey W. : « De motu cordis » (de la circulation du sang) (traduction française par Ch. Richet, 1869), Christian Bourgeois, (1990)
- Magendie F., *in* « Précis élémentaire de Physiologie », (1825)
- Mayr E. : « Histoire de la Biologie », 2 t., Fayard, (1989)
- Pichot A. : « Histoire de la notion de vie », Gallimard, (1995)
- Ratcliff M. : « Le concept de suite d'expériences comme reflet de l'activité naturaliste du XVIII^e siècle », *in* « Bulletin d'histoire et d'épistémologie des sciences de la vie », 2/1, 11, (1995)
- Taton R. : « La Science antique et médiévale. Des origines à 1450 », Quadrige/ Presses Universitaires de France, (1994)
- Vignais P. : « Science expérimentale et connaissance du vivant, La méthode et les concepts », EDP-Sciences, (2006)

Vignais P. : « La Biologie, des origines à nos jours. Une histoire des idées et des Hommes », EDP Sciences, (2001)

I.1. LA BIOLOGIE MOLÉCULAIRE DU GÈNE ET SES RÉALISATIONS

I.1.1. La biologie moléculaire du gène (double hélice, expression et régulation génétiques ; le dogme central)

Avery O.T., McLeod C. and Mc Carthy M. : « Study of the chemical nature of the substance inducing transformation of pneumococcal types », *J. Exp. Med.*, 79, 137, (1944)

Beadle C. and Tatum E.L. : « Genetic control of biochemical reactions in *Neurospora* », *Proc. Nat. Acad. Sci., USA*, 27, 499, (1941)

Hunt M. Th. : « Sex limited inheritance in *Drosophila* », *Science*, 32, 120, (1910)

Jacob F. and Monod J. : « Genetic mapping of the elements of the lactose region in *E. coli* », *Biochem. Biophys., Res. Commun.*, 18, 693, (1965)

Jacob F. and Monod J. : « Genetic regulatory mechanisms in the synthesis of proteins », 3, 318, (1961)

Kendrew J. : « The thread of life: an introduction to molecular biology », Cambridge, Mass. Harvard, Uni. Press, (1966)

Kornberg A. : « Aspects of DNA replication », Cold Spring Harbor, Symp. Quant. Biol., 43, 1, (1978)

Kuhn Th. : « La structure des révolutions scientifiques » (traduit de l'américain par Laure Meyer, Champs-Flammarion, (1983)

Mendel G. : « Versuchen über Pflanzen-Hybriden », Mémoire présenté devant la société scientifique de Brünn, *Verh. Naturforsch. Ver.*, Brünn, 4, 3, (1866)

Miescher F. : « Über die chemische zusammensetzung der erberzellen », in Hoppe Seyler's Medicinisch gemische Untersuchungen, Berlin, August Hirschwald, 4, 441, (1871)

Monod J., Wyman J. and Changeux J.P. : « On the nature of allosteric transitions: a plausible model », *J. Mol. Biol.*, 12, 88, (1965)

Pauling L., Corey R.B. and Branson H.R. : « The structure of proteins : two hydrogen bonded configurations of the polypeptide chain », *Proc. Nat. Acad. Sci., USA*, 37, 205, (1951)

Perutz M. : « Proteins and nucleic acids », Elsevier, (1962)

Schrödinger E. : « What is Life ? », Cambridge Press, (1945)

Watson J.-D. and Crick F.H. : « Molecular structure of nucleic acids. A structure for desoxyribose nucleic acid », *Nature*, 171, 737, (1953)

Revues générales

- Debru Cl. : « L'esprit des protéines ; Histoire et philosophie biochimique », Hermann, (1983)
- Gros F. : « Les secrets du gène », Odile Jacob, (1986)
- Jacob F. : « La logique du vivant une histoire de l'hérédité », Gallimard, Bibliothèque des Sciences humaines, (1970)
- Lwoff A. : « Jeux et combats », Librairie Arthème Fayard, (1981)
- Monod J. : « Le hasard et la nécessité. Essai sur la philosophie naturelle de la biologie moderne », Le Seuil, (1970)
- Morange M. : « Histoire de la Biologie moléculaire », La Découverte, (1994)

I.2.2. Le code génétique – Le transfert de l'information génétique – transcription – traduction

- Basilio C., Wahba A.J., Lengyel P., Speyer J.F. and Ochoa S. : « Synthetic polynucleotides and the amino acid code V », Proc Natl Acad Sci USA, 48, 613, (1962)
- Brenner S., Jacob F. and Meselson M. : « An unstable intermediate carrying information from genes to ribosomes for protein synthesis », Nature, 190, 576, (1961)
- Crick F.H.C., Griffith J.S. and Orgel L.E. : « Codes without commas », Proc. Nat. Acad. Sci., USA, 43, 416, (1957)
- Gamow G.A. : « Possible relation between deoxyribonucleic acid and protein structures », Nature, 173, 318, (1954)
- Gros F., Hiatt H., Gilbert W., Kurland C.G., Risebrough R.W. and Watson J.-D. : « Unstable ribonucleic acid revealed by pulse labeling in *E. coli* », Nature, 190, 581, (1961)
- Grunberg-Manago M. and Ochoa S. : « Enzymatic synthesis and breakdown of polynucleotides : polynucleotide phosphorylase », J. Amer. Chem. Soc., 77, 3165, (1955)
- Hall B.D. and Spiegelman S. : « Sequence complementarity of T₂ DNA and T₂ specific RNA », Proc. Nat. Acad. Sci., USA, 47, 137, (1961)
- Nierenberg N.W. and Mathaei J.H. : « The dependence of cell free protein synthesis in *E. coli*, upon naturally occurring or synthetic polynucleotides », Proc. Nat. Acad. Sci., USA, 47, 1588, (1961)
- Revel M. and Gros F. : « A factor from *E. coli* required for the translation of natural messenger RNA », Biochem. Biophys. Res. Commun., 25, 124, (1966)

Revues générales

- Kaplan J.C. and Delpuch M. : « Biologie moléculaire et médecine », Flammarion, (1989)

I.2.3. Régulation des gènes – Le répresseur – L'opéron lactose

- Gilbert W. and Müller-Hill B. : « Isolation of the lac repressor », Proc. Nat. Acad. Sci. USA, 56, 1891, (1966)
- Jacob F. and Monod J. : « Genetic mapping of the elements of the lactose region in *E. coli* », Biochem. Biophys. Res. Commun., 18, 693, (1965)
- Monod J. and Cohn M. : « La biosynthèse induite des enzymes (adaptation enzymatique) », Adv. Enzymol., 13, 67, (1952)
- Schwartz M. : « Sur l'existence chez *E. coli*-K12 d'une régulation commune à la biosynthèse des récepteurs du bactériophage et au métabolisme du maltose », Ann. Inst. Pasteur, 113, 685, (1967)
- Temin H. and Baltimore D. : « RNA directed DNA synthesis and ANA tumor viruses », Advances Virus Res., 17, 129, Academic Press, (1972)

I.2.4. Le dogme central de la Biologie moléculaire

- Crick F.H.C. : « On protein synthesis », Symp. Soc. Exp. Biol., 12, 548, (1958)

I.3.1. Génie génétique – Découverte – Biologie des organismes supérieurs

- Berg P., Baltimore D., Brenner S., Roblin R.O. and Singer M.F. : « Asilomar conference on recombinant DNA molecules », Science, 188, 991, (1975)
- Cohen S., Chang A.C.Y., Boyer H.W. and Helling B. : « Construction of biologically functional bacterial plasmids in vitro », Proc. Nat. Acad. Sci., USA, 70, 3240, (1973)
- Dintzis H.M. and Knopf P.M. : « Informational macromolecules », Academic Press, New York, (1963)
- Jackson D.A., Symons R.H. and Berg P. : « Biochemical method for inserting new genetic information into DNA of Simian virus 40 : circular SV40 molecular containing lambda phage genes and the galactose operon of *E. coli* », Proc. Nat. Acad. Sci., USA, 69, 2904, (1972)

I.3.2. Exons-introns

- Berget S.M., Moore C. and Sharp P.A. : « Spliced segments at the 5' terminus of adenovirus 2 late mRNA », Proc. Nat. Acad. Sci. USA, 74, 3171, (1977)
- Brody E. and Abelson J. : « The spliceosome: yeast premessenger RNA associate with a 40 S complex in a splicing dependant reaction », Science, 228, 963, (1985)
- Cech T.R., Zang A.J. and Grabowski P.J. : « In vitro splicing of the ribosomal RNA precursor of tetrabymena. Involvement of a guanine nucleotide in the excision of the intervening sequence », Cell, 27, 487, (1981)

- Cech T.R. : « RNA as an enzyme », *Sci. Amer.*, 255, 64, (1986)
- Chambon P. : « Structure et expression des gènes eucaryotes en mosaïque I », *in* « Exposés sur la génétique », *C.R. Acad. Sci.*, 291, supplément, p. 21, (1980)
- Gilbert W. : « Why genes in pieces? », *Nature*, 271, 501, (1978)
- Kourilsky Ph. : « Structure et expression des gènes eucaryotes en mosaïque II », *in* « Exposés sur la génétique », *C.R. Acad. Sci.*, 291, supplément, (1980)
- Le Pennec J.-P., Baldacci P., Perrin F., Cami B., Gerlinger P., Krust A., Kourilsky Ph. and Chambon P. : « The ovalbumin split gene: molecular cloning of Eco RI fragments *c* and *d* », *Nucleic Acids Res*, 12, 4547, (1978)
- Sharp P. : « Splicing of messenger RNA precursors », *Science*, 235, 766, (1987)

I.4. LA COMPLEXITÉ DU MATÉRIEL GÉNÉTIQUE CHEZ LES EUKARYOTES

I.4.1. Compaction de la chromatine, nucléosomes

- Bradbury E.N. : « Structure and function of Chromatin », CIBA Foundation, Elsevier, 28, 131, (1975)
- Felsenfeld G., Mc Ghee J. : « Structure of the 30 nm chromatin fiber », *Cell*, 44, 375, (1986)
- Klug A., Rhodes D., Smith J., Finch J.T. and Thomas J.G. : « A low resolution structure for the histone core of the nucleosomes », *Nature*, 287, 509, (1980)
- Kornberg R. : « Chromatin structure: a repeating unit of histones and DNA », *Science*, 184, 868, (1974)
- Richmond T.J., Finch J.T. and Klug A. : « Studies of nucleosome structure », Cold Spring Harbor, Symp. Quant. Biol., 47, 493, (1982)
- Rouvière-Yaniv J. and Gros F. : « Characterization of a novel low molecular weight DNA binding protein from *Escherichia Coli* », *Proc. Nat. Acad. Sci., USA*, 72, 3420, (1975)

I.4.2. Modifications épigénétiques

- Bird A. : « CpG rich islands and the function of DNA methylation », *Nature*, 321, 209, (1986)
- Cedar H. : « DNA methylation and gene activity », *Cell*, 53, 3, (1988)

Revue

- « Actualités de l'épigénétique », *Biofutur*, 243, 18, (2004)

I.4.3. Régulations positives, promoteurs, sequences cis-régulatrices

- Dynan W.S. and Tjian R. : « Isolation of transcription factor that discriminate between different promoters recognized by RNA polymerase II », *Cell*, 32, 669, (1983)
- Dynan W.S. and Tjian R. : « Control of eukaryotic messenger RNA synthetas by sequence specific DNA binding proteins », *Nature*, 316, 774, (1985)
- Elgin S. : « Dnase-1, hypersensitive sites of chromatin », *Cell*, 27, 413, (1981)
- Kingstron R.E. : « Transcription control and differentiation: the HLH family c-myc and C/EBP », *Current Opinion in Cell Biologie*, 1, 1081, (1989)
- Müller M., Gerster T., Schaffner W. : « Enhancer sequences and the regulation of gene transcription », *Eur. J. Biochem*, 176, 485, (1988)
- Schaffner W. : « Eucaryotic transcription – The role of cis and trans-acting elements in initiation », *in* « Eucaryotic transcription current communications in Molecular Biology », Y. Gluzman ed., Cold Spring Harbor Laboratory, p. 1, (1985)
- Serflying E., Jasin M. and Shaffner W. : « TIG. Enhancers and eukaryotic gene transcriptome », (August, 1985)
- Shapiro J.A. and Cordell B. : « Eucaryotic mobile and repeated genetic elements », *Biol. Cell.*, 43, 31, (1982)
- Singer M. : « SINE_s and LINE_s : highly repeated short and long intersperced sequences in mammalian genomes », *Cell*, 28, 433, (1982)
- Wu C. : « Two protein binding sites in chromatin implicated in the activation of heat shock genes », *Nature*, 309, 229, (1984)
- Yaniv M. : « Regulation of eukaryotic gene expression by trans-activating protein and cis-acting DNA elements », *Biol. Cell.*, 50, 203, (1984)

I.4.4. ADN codant et non codant

Revue

- « Initial sequencing and analysis of the human genome », *Nature*, 409, 860-921, (2001)

I.4.5. Eléments répétitifs

- Baltimore D. : « Retroviruses and retro-transposons : the role of reverse transcription in shaping the eukaryotic genome », *Cell*, 40, 481, (1985)
- Britten R.J. and Kohne : « Repeated sequences in DNA », *Science*, 161, 529, (1968)
- Cavalli L., Lederberg J. and Lederberg E.M. : « An infective factor controlling sex compatibility in bacterium Coli », *J. Gen. Microb.*, 8, 89, (1953)

- Finnegan D. : « Transposable elements and proviruses », *Nature*, 292, 800, (1981)
- Jacob F. and Wollman E.L. : « Les épisomes, éléments génétiques ajoutés », *C.R. Acad. Sci., Paris*, 247, 154, (1958)
- Korenberg J. and Rykowski M. : « Human genome organization : Alu, lines and the molecular structure of metaphase chromosome bands », *Cell*, 53, 391, (1988)
- Mc Clintock B. : « Chromosome organization and genetic expression », Cold Spring Harbor, *Symp. Quant. Biol.*, 16, 13, (1951)
- Mc Clintock B. : « Genetic systems regulating gene expression during development », *Dev. Biol. (suppl.)*, 1, 84, (1967)

I.5.1. Génomique – Données générales – Conséquences – Applications

- Belasco J.G. and Brawerman G. : « Control of messenger RNA stability », Academic Press, xviii, 517, (1993)
- Capecchi M.R. : « Altering the genome by homologous recombination », *Science*, 244, 1288, (1989)
- Chambon P. : « Séquences consensus d'épissage », cité dans Kaplan J.-C. et Delpech M., « Biologie moléculaire et Médecine », Flammarion, 4, 72, (1993)
- Changeux J.-P. and Danchin A. : « Selective stabilization of developing synapses as a mechanisms for the specification of neuronal networks », *Nature*, 264, 705, (1976)
- Lander E.S. *et al.* : « Initial sequencing and analysis of the human genome », *Nature*, 409, 860-921, (2001)
- Maxam A. and Gilbert W. : « Sequencing end labeled DNA with base-specific chemical cleavages », *Methods in enzymology*, Wu, Moldave and Grossman eds., Acad. Press, 65, 499, (1980)
- Sanger F., Nickler F. and Coulson A.R. : « DNA sequencing with chain terminating inhibitors », *Proc. Nat. Acad. Sci., USA*, 74, 5463, (1977)
- Scherrer K. and Jost J. : « Gene and genon concept : a conceptual and informative-theoretic analysis of genetic storage and expression in the light of modern molecular biology », *Theory Biosci.*, 126, 65, (2007)
- Venter J.C. *et al.* : « The sequence of the human genome », *Science*, 291, 1304, (2001)

I.5.2. Polymorphisme génétique – Les SNP

- Cavalli-Sforza L.L. : « The human genome diversity project », in IBC proceedings II., UNESCO, (1995)

- Cavalli-Sforza L.L., Piazza A., Menozzi P. and Moutain J. : « Reconstruction of human evolution », Proc. Nat. Acad. Sci., USA, 85, 6002, (1998)
- Gros F. : « Les SNPs » in « Mémoires scientifiques – un demi-siècle de biologie », Odile Jacob, Paris, p. 232, (2003)
- Jeffrey A.J., Wilson V. and Thein S.L. : « Hypervariable satellite regions in human DNA », Nature, 314, 67, (1989)

I.5.3. Une Biologie des ensembles moléculaires – Transcriptomes – Protéomes

- Amouyal P. : « Vers des profils pharmacologiques », Biofutur n° 206, 86, (2000)
- Celis J.E. *et al.* : « 2D protein electrophoresis : can it be perfected ? », Curr. Opin. Biotech., n° 10, 16, (1999)
- Garin J. : « Analyse protéomique. Exploration cellulaire et annotation », Biofutur, hors série, n° 4, p. 28, (2002)
- Kaplan J.-C. and Delpech M. : « Les techniques d'amplification élective in vitro (PCR) », in Biologie moléculaire et Médecine, 2^e éd., p. 558, (1993)
- Kendrew J. : « The thread of life : an introduction to molecular biology », Cambridge, Mass. Harvard, Univ. Press, (1966)
- Minard Ph. : « Ingénierie des protéines », Biofutur, n° 288,
- Mullis K.B. and Faloona F.A. : « Specific synthesis of DNA in vitro, via a polymerase catalyzed chain reaction », Methods Enzymol., 155, 335, (1987)
- Perutz M. : « Proteins and nucleic acids », Elsevier, (1962)
- Van't Veer L.J. *et al.* : « Gene expression profiling predicts clinical outcome of breast cancer », Nature, 415, 530, (2002)

I.5.4. Qu'est-ce qu'un gène ? La Biologie des systèmes

- Dawkins R. : « The extend phenotype: the gene as the unit of selection », Freeman, (1982)
- Kitano H. : « Foundations of systems biology », MIT Press, Cambridge, MA USA, (2001)
- Laforge B. *et al.* : « Progress in biophysics and molecular biology », 89, 93, (2005)
- Noble D. : « The music of Life: Biology beyond the genome », Oxford Univ. Press, (2006)
- Noble D. : « The rise of computational biology », Nature Reviews Molecular Cell Biology, 3, 460, (2002)
- Novartis Foundation : « The limits of reductionism in biology », Chichester, Wiley, (1998)

I.6. UN SOUFFLE NOUVEAU EN BIOLOGIE MOLÉCULAIRE – LE MONDE DES ARN ET LES PHÉNOMÈNES D'INTERFÉRENCE – RETOUR À L'ÉPIGÉNÉTIQUE

I.6.1. Le monde des ARN

I.6.2. Si-ARN et micro ARN

- Bartel D.P. and Zheng Chen Z. : « Micromanagers of gene expression: the potentially widespread influence of metazoan micro RNAs », *Nature Reviews (Genetics)*, 5, 306, (2004)
- Fire A., Xu S., Montgomery M.K., Kotsas S.A., Driver S.E. and Mello C.C. : « Potent and specific genetic interference by double stranded RNA in *Caenorhabditis elegans* », *Nature*, 391, 806, (1998)
- Jogensen R.A. : « Sense cosuppression : past, present and future », edit. By G. Hannon, *RNA interference*, Cold Spring Harbor Press
- Lee R.C., Feinbaum R.L. and Ambros V. : « The *C. elegans* heterochromatic gene *lin-4* encodes small RNAs with antisense – complementarity to *lin-14* », *Cell*, 75, 843, (1993)
- Lewis B.P., Bartell D. *et al.* : « Prediction of Mammalian micro-RNA targets », *Cell*, 115, 787, (2003)
- Murchison E.P. and Hannon G.J. : « miRNAs on the move : miRNA biogenesis and the RNAi machinery », in *Curr. Opin. in Cell Biology*, 16, 223, (2004)
- Palatnik J.E. *et al.* : « Control of leaf morphogenesis by micro RNAs », *Nature*, 425, 257, (2003)
- Park W., Li J., Song R., Messing J. and Chen X. : « Carpel factory, a Dicer homolog and HEN1, a novel protein, act in micro-RNA metabolism in *Arabidopsis thaliana* », *Curr. Biol.*, 12, 1484, (2002)
- Plasterk R.H.A. : « RNA silencing : the genome's immune system », *Science*, 296, 1263, (2002)
- Reinhart *et al.* : « The 21-nucleotide *let-7* RNA regulates developmental timing in *Caenorhabditis elegans* », *Nature*, 403, 901, (2000)
- Sijen T. and Plasterk R.H.A. : « Transposon silencing in the *Caenorhabditis elegans* germ line by natural RNAi », *Nature*, 426, 310, (2003)
- Tang G., Reinhart B.J., Bartel D.P. and Zamore P.D. : « A biochemical framework for RNA silencing in plants », *Genes Dev.*, 17, 49, (2003)
- Wichtman B., Ha I. and Ruvkun G. : « Post transcriptional regulation of heterochromatic gene *lin-14* by *lin-4* mediates temporal pattern formation in *C. elegans* », *Cell*, 75, 855, (1993)
- Yonath A. : « Ribosomal crystallography : peptide bond formation, chaperone assistance and antibiotic activity », *Mol. Cells*, 20, 1, (2006)

I.6.3. Le retour en force sur l'épigénétique

- Avner P. and Heard E. : « x-chromosome inactivation: counting, choice and initiation », *Nat. Rev. Genet.*, 2, 59, (2001)
- Cantoni G. : « S-Adenosyl methionine; a new intermediate formed enzymatically from L-methionine and adenosine triphosphate », *J. Biol. Chem.*, 204, 403, (1953)
- Franklin S.G. and Zweiler A. : « Non-allelic variants of histones 2a, 2b and 3 in mammals », *Nature*, 266, 273, (1977)
- Holliday R. and Pugh J.E. : « DNA modification mechanisms and gene activity during development », *Science*, 187, 226, (1975)
- Lyon M.F. : « Gene Action in the x-chromosome of the Mouse (*Mus musculus* L), *Nature*, 190, 372, (1961)
- Morange M. : « 60 ans d'épigénétique », *Biofutur*, n° 243, p. 18-31, (2004)
- Plath K. *et al.* : « Role of histone H3 lysine 27 methylation in X inactivation », *Science*, 300, 131, (2003)
- Plath K. *et al.* : « Xist RNA and the mechanism of X chromosome inactivation », *Annu. Rev. Genet.*, 36, 233, (2002)
- Riggs A.D. : « X inactivation, differentiation, and DNA methylation », *Cytogenet. Cell. Genet.*, 14, 9, (1975)
- Russo V.E.A, Martienssen R.A. and Riggs A.D., *in* « Epigenetic mechanisms of gene regulation », Cold Spring Harbor, laborat. Press, p. 1, (1996)
- Schubert H.L. *et al.* : « Many paths to methyltransfer : a chronicle of convergence », *Trends. Biochem. Sci.*, 28 (6), 329, (2003)
- Silva J. *et al.* : « Establishment of histone H3 methylation on the inactive X chromosome requires transient recruitment of Eed-Enx1 polycomb groupe complexes », *Dev. Cell.*, 4 (4), 481, (2003)
- Waddington C. : « L'épigénotype », *Endeavour*, 1, 18, (1942)

II.1. SANTÉ

II.1.1. Maladies infectieuses (renouveau de la microbiologie, vaccins, diagnostics et thérapeutiques anti-virales, zoonoses, maladies à prions)

II.1.1.1. Le retour des maladies infectieuses – Les maladies de la pauvreté – Maladies tropicales négligées

Revue

- F. Gros (coordonnateur), « Sciences et pays en développement – L'Afrique subsaharienne francophone », Rapport RST n° 21 de l'Académie des sciences (2006)

II.1.1.2. LA MICROBIOLOGIE ET SON RENOUVEAU

- *Considérations générales*

« Le péril infectieux. Quelles stratégies de lutte ? », Biofutur, n° 217, (déc. 2001)

Schatz A., Bugie E. and Waksman E.S. : « Streptomycin : A Substance Exhibiting Antibiotic Activity Against Gram-Positive and Gram-Negative Bacteria », Proc. Soc. Exp. Biol. Med., 55, 66, (1944)

Ullmann A. : « Pasteur et Koch : Distinct ways of thinking about infectious diseases », Features, Microb.2, n° 8, 383, (2007)

- *Les facteurs d'un renouveau en microbiologie*

- *Génomique et virulence*

Hacker J. and Kapper J.B. : « The concept of pathogenicity islands », in Kapper J. and B. Hacker eds., « Pathogenicity islands and other mobile virulence elements », ASM press, 1, 11, (1999)

Kaiser J. : « Resurrected influenza virus yields secrets of deadly 1918 pandemic », Science, p. 28, (7 oct. 2005)

Laugier N. : « Les gènes du pathogène (*E. coli*, O157: H7) », Biofutur, (mars 2001)

Perna N.T. *et al.* : « Genome sequence of enterohaemorrhagic Escherichia Coli O157:H7 », Nature, 409, 529, (2001)

Sansonetti P. : « New millenium, new microbiology ? », in Med/Sci., 17, n° 67, 687, (2001)

Tumpey T.M. *et al.* : « A Two-Amino Acid Change in the Hemagglutinin of the 1918 Influenza Virus Abolishes Transmission », Science, 315, 655, (2007)

- *Les cellules cibles et les mécanismes de pénétration des bactéries pathogènes*

Cossart P., Pizzaro-Cerda J. and Lecuit M. : « Invasion of mammalian cells by *Listeria monocytogenes*: functional mimicry to subvert cellular functions », in Trends, Cell. Biol., 13, n° 7, 23, (2003)

Sansonetti P.J. : « Microbial pathogenesis, new paths into a new millenium », Trends Microbiol. 8, 196, (2000)

Tran Van Nhieu G., Bourdet Sicard R., Duménil G., Blocker A. and Sansonetti P. : « Bacterial signals and cell responses during *Shigella* entry into epithelial cells », Cell Microbiol., 2, 187, (2000)

Tran Van Thien G., Cossart P. : « Détournement des fonctions cellulaires clés par les bactéries pathogènes », Méd./Sci., 17, 701, (2001)

- *Gènes de susceptibilité*

Abel L., Sanchez O., Oberti J., Tuc N.V., Van Hoa L., Lap V.D., Skamene E., Lagrange P.H. and Schurr E. : « Susceptibility to leprosy is linked to the human NRAMP1 gene », J. of Infect. Dis., 177, 133, (1998)

● *Environnement et réservoirs d'agents pathogènes*

- Labigne A. : « Connaissance du génome de *Helicobacter pylori* : implications pour la physiopathologie et la thérapeutique », *Med/Sci.*, 17, 712, (2006)
- Rhodain F. : « Rapport sur l'évaluation du risque d'apparition et de développement de maladies animales compte tenu d'un éventuel réchauffement climatique » *in* ECRIN, 68, 23, (2007)
- Schwartz M. et Rhodain F. : « Des microbes ou des hommes, qui va l'emporter ? », Odile Jacob, (2008)
- Tiollais P., Charnay P. and Vyas G.N. : « Biology of hepatitis B virus », *Science*, 213, 406, (1981)
- Tomb J.F., White O., Kerlawage A.R. *et al.* : « The complete genome sequence of the gastric pathogen, *Helicobacter pylori* », *Nature*, 388, 539, (1997)

II.1.1.3. : VACCINOLOGIE

- « Les nouveaux vaccins », *Biofutur*, n° 274, (Fév. 2007)
- « Vaccin et vaccinologie: l'œuf et la poule », *Pasteur, Le Mag*, n° 2, (juin 2007)
- « La cellule dendritique, un rouage essentiel de la réponse immunitaire », *in* « Vaccin et vaccinologie », *Pasteur Le Mag*, n° 2, p. 15, (2007)
- « Vaccines : innovation and human health », *EASAC policy report*, (mai 2006)
- Cohen J. : « SIDA : en attendant le vaccin », *in* *Biofutur* « Le péril infectieux, quelles stratégies de lutte ? », n° 217, (2001)
- *Les défis posés par le SIDA, le paludisme et la tuberculose*
- « Menaces sur la santé. Alerte aux virus », *Journ. CNRS*, n° 208, p. 22, (2007)
- Camus E., Tiemoko Traoré M., Cuny G. et Aumont G. : « Le retour des maladies animales », *op. cit.*, p. 16
- Dumbo Ogobara K. : « It takes a village : Medical research and ethics in Mali », *Science*, 307, 679, (2005)
- Murgue B. et Robert V. : « La menace des maladies émergentes infectieuses », *in* *La Recherche* « Recherche pour le développement : un enjeu mondial », n° 406, p. 15, (2007)
- Vogel G. : « Against all odds, victories from the front line », *Science, New series*, 290, n° 5491, p. 431, (2000)
- Women Health Education Program
- « SIDA, le combat sans répit », *Journ. CNRS*, n° 218, (mars 2008)

II.1.1.4. LES ZONOSSES

- « Virus émergents. La Science sur le qui-vive » *in* *Research* (magazine de l'espace européen de la recherche), n° 53, p. 6, (2007)

- Blancou J. et Lefèvre P.C. : « Formation à la surveillance et au contrôle des zoonoses en Afrique – Suggestions de modalités pratiques », *GID*, Académie des sciences, (17 mars 2006)
- Brand C.M. and Skehel J.J. : « Crystalline antigen from the influenza virus envelope », *Nature, New Biology*, 238, 145, (1972)
- Ducatez M.F., Olinger C.M., Owoade A.A., De landtsheer, Ammerlaan, Niesters H.G. and Osterhaus A.D. : « Avian flu, multiple introductions of H5N1 in Nigeria », *Nature*, 442, 37, (2006)
- Gamblin S.J., Haire L.F., Russel R.J., Stevens D.J., Xiao B., Ha Y., Vasisht N., Steinhauer D.A., Daniels R.S., Elliot A., Wiley D.C. and Skehel J.-J. : « The structure and receptor binding properties of the 1918 influenza hemagglutinin », *Science*, 19, 1838, (2004)
- Kulken T., Leighton F.A., Fouchier R.A., Le Duc J.W., Peiris J.-S., Schudel A., Stohr K. and Osterhaus A.D. : « Public health pathogen surveillance in animals », *Science*, 309, 1680, (2005)
- Van den Hoogen B.G., De Jong J.C., Groen J., Kulken T., De Groot R., Fouchier R.A. and Osterhaus A.D. : « A newly discovered human pneumovirus isolated from young children with respiratory tract disease », *Nature (Med.)*, 7, 719, (2001)
- Wiley D.C., Wilson I.A. and Skehel J.J. : « Structural identification of the antibody binding sites of Hong Kong influenza hemagglutinine and their involvement in antigenic variation », *Nature*, 289, 366, (1981)

II.1.1.5. DIAGNOSTICS ET THÉRAPIES DES MALADIES VIRALES, UN APERÇU

- *Thérapies antivirales*
 - *Les maladies à prions*
- Alper T. *et al.* : « Does the agent of scrapie replicate without nucleic acid », *Nature*, 214, 764, (1967)
- Baumann *et al.* : « Lethal recessive myelin toxicity of prion protein lacking its central domain », *EMBO J.*, 26, 538 (2007)
- Blattler T., Brandner S., Raeber A.J., Klein M.A., Voigtlander T., Weizmann C. and Aguzzi A. : « PrP expressing tissue required for transfer of scrapie infectivity from spleen to brain », *Nature*, 389, 69, (1997)
- Cathala F., Brown P., Castaigne P. and Gajdusek D.C. : « La maladie de Creutzfeldt-Jacob en France continentale – Etude rétrospective de 1968 à 1977 », *Rev. Neurol.*, 5, 439, (1979)
- Cuillé J. et Chelle P.L. : « Pathologie animale : la maladie dite de la tremblante du mouton est-elle inoculable ? », *C.R. Acad. Sci.*, 203, 1552, (1936)
- Fournier J.G., *in* « Repères », *op.cit.*, (sept. 2001)
- Heppner F.L. *et al.* : « Experimental autoimmune encephalomyelitis repressed by microglial paralysis », *Nature (Med)*, 11, 146, (2005)

- Heppner F.L., Musahi C., Arrighi I., Klein M.A., Rulicke T., Oesh, B., Zinker-nagel R.M., Kalinke U. and Aguzzi A. : « Prevention of scrapie pathogenesis by transgenic expression of anti-prion protein antibodies », *Science*, 294, 5540, 178, (6 septembre 2001)
- Lopez Garcia F., Zahn R., Riek R. and Wütrich K. : « NMR structure of the bovine prion protein », *Proc. Natl. Acad. Sci.*, 97, 8334, (2000)
- Meier P., Genoud N., Prinz M., Maissen M., Rulicke T. Rubriggen A., Raeler A.J. and Aguzzi A. : « Soluble dimeric prion protein binds PrP (Sc) in vivo and antagonizes prion disease », *Cell*, 203, 49, (2003)
- Prusiner S.B. : « Prions », *Proc. Nat. Acad. Sci., USA*, 95, 13363, (1998)
- Will R.G. *et al.* : « A new variant of Creutzfeldt-Jacob disease, in the UK », *Lancet*, 347, 921, (1996)
- Zigas V. and Gajdusek D.C. : « Degenerative disease of the central nervous system in New Guinea endemic occurrence of kuru in the native population », *N. Engl. J. Med.*, 257, 974, (1957)

Revues

- Dormont D. : « Biologie des agents transmissibles non conventionnels ou prions », *in* « Revue neurol. », 154, n° 2, 142, (1998)
- Le Guyader M.F.C. : « Le défi des maladies à prions », *in* Document d'information scientifique (INSERM), (septembre 2001)
- Lledo P.M. : « Les maladies à Prions », PUF, collection Que sais-je ?, (2002)

II.1.2. Maladies génétiques – Thérapie génique

- Dintzis S.M. *et al.* : « Quantitative amplification of genomic DNA from histological tissue sections after staining with nuclear dyes and laser capture microdissection », *J. Mol. Diagn.*, 3, 22, (2001)
- Fardeau M. : « L'homme de chair », Odile Jacob., (2005)
- Mandel J.-L. : « Gènes et maladies. Les domaines de la génétique humaine sur la myopathie de Duchenne », Collège de France, Leçon 179, Fayard, (2005)
- Quilly P. : « Duchenne de Boulogne », J.-B. Baillière et fils, Paris, (1936)

II.1.2.2. L'EXEMPLE DE LA MYOPATHIE DE DUCHENNE (DMD) – UN CAS D'ÉCOLE

- Ahn A.H. and Kunkel L.M. : « The structural and functional diversity of dystrophin ». *Nat. Genet.* 3, 283, (1993)
- Monaco A.P., Bertelson C.J., Middlesworth W., Colletti C.A., Aldridge J., Fischbeck K.H., Bartlett R., Perricack-Vance M.A., Roses A.D. and Kunkel L.M. : « Detection of deletions spanning the Duchenne muscular

dystrophy locus using a tightly linked DNA segment », *Nature*, 316, 842, (1985)

II.1.2.3. MALADIES NEURODÉGÉNÉRATIVES

- « Les maladies neurodégénératives », *Ann. Inst. Past., Actualités*, Elsevier, 11, n° 2, (2000)
- Alzheimer A. : « *Centralblatt für Nervenheilkunde und Psychiatrie* », 30, 177, (1907)
- Brassat D., Durr A., Agid Y., Brice A. *et al.* : « Génétique de la maladie de Parkinson », *Rev. Med. Interne*, 20, 709, (1999)
- Checler F. : « Presenilius, structural aspects and post-translational events in normal ageing and Alzheimer's disease », *Molec. Neurobiol.*, 19, 255, (1999)
- Delacourte A., David J.P., Sergeant N., Buee L., Wattez A., Vermersh P., Ghozali F., Fallot-Bianco C., Pasquier F. *et al.* : « The biochemical pathway of neurofibrillary degeneration in aging and Alzheimer disease », *Neurology*, 52, 1158, (1999)
- Gimenez Y., Ribotta M. et Privat A. : « Sclérose latérale amyotrophique », *op. cit.*, p. 69
- Hauw J.J., Dubois B., Verny M. et Duyckaerts C. : « La maladie d'Alzheimer », John Libbey Eurotext, (1997)
- Jellinger K.A. : « Post mortem studies in Parkinson's disease : is it possible to detect brain areas for specific symptoms ? », *J. Neural. Transm., suppl.* 6, 1, 29, (1999)
- Kingsbury A.F., Marsden C.D. and Foster O.J.F. : « DNA fragmentation in human substantia nigra: apoptosis or perimostem effect ? », *Mov. Disord.*, 13, 877, (1998)
- Lebre A.S. and Brice A. : « Maladies par expansion de polyglutamine (données moléculaires et physiopathologiques) », in *Ann. Inst. Past., Actualités*, 11, p. 47, (2000), (inclus : Huntington, ataxies de Friedreich, retard mental lié à l'X, etc.)
- Pericak-Vance M.A. *et al.* : « Complete genomic screen in late onset familial Alzheimer disease – Evidence for a new locus on chr.12 », *JAMA*, 278, 1237, (1997)
- Ruberg M. : « Maladie de Parkinson, vers un mécanisme de mort neuronale », in *Ann. Inst. Past., actualités « Les maladies neuro-dégénératives »*, Elsevier, 11, p. 25, (2000)
- Spacey S.D. and Wood N.W. : « The genetics of Parkinson's disease », *Curr. Opin. Neurol.*, 12, 427, (1999)
- Terry R.D. and Hansen L.A. : « Some morphometric aspects of Alzheimer disease and of normal aging », in Terry R.D. ed. « *Ageing and the brain* », Raven Press, p. 109, (1988)

- Vassar R., Bennett B.D., Babu Khan S., Mendiaz E.A., Dené P., Teplow D.B., Ross S., Amarante P. *et al.* : « Beta-secretase cleavage of Alzheimer's amyloid precursor protein by the transmembrane Aspartic-Protease, BACE », *Science*, 286, 735, (1999)
- Zubenko G., Winwood F., Jacobs B., Tepy I., Stiffer J., Hughes H.R., Huff F., Sunderland T. and Martinez A. : « Prospective study of risk factors for Alzheimer's disease: results at 7.5 years », *Am. J. Psychiatry*, 50, (1999)

II.1.2.4. GÈNES DE SUSCEPTIBILITÉ – POLYMORPHISME ET MALADIES – GÈNES DU SYSTÈME HLA

- « Pharmacogénétique », *Biofutur*, 206, p. 88, (décembre 2000)
- Lewis K. : « SNP's as windows on evolution », *the Scientist*, 16, 16, (2002)
- Miki Y. *et al.* : « A strong candidate for the breast and ovarian cancer susceptibility gene, BRCA1 », *Science*, 266, 66, (1994)
- Roses A.D. : « Pharmacogenetics and the practice of medicine », *Nature*, 405, 857, (2000)
- Woostee R. *et al.* : « Identification of the breast cancer susceptibility gene, BRCA2 », *Nature*, 378, 789, (1995)

II.1.2.5. THÉRAPIE GÉNIQUE – LE GÈNE MÉDICAMENT – LA CHIRURGIE DU GÈNE

- Anderson F.W. : « Human gene therapy », *Nature (suppl.)*, 392, 25, (1998)
- Blaese R.M., Culver K.W. *et al.* : « T. Lymphocyte directed gene therapy for ADA-SCID: initial trial results after 4 years », *Science*, 270, 475, (1995)
- Cavazzana-Calvo M., Hacein-Bey S., de St Basile G. *et al.* : « Gene therapy of human severe combined immunodeficiency (SCID), XI disease », *Science*, n° 288, 669, (2000)
- Fischer A. and Cavazzana-Calvo M. : « Whither gene therapy ? », *The Scientist*, 20, p. 36-38, (2006)
- Fischer A., Cavazzana-Calvo M. *et al.* : « Sustained correction of human X linked. Severe combined immunodeficiency by ex vivo gene therapy », *New Engl. J. Med.*, 346, 1185, (2002)
- Garcia L. : « Rescue of dystrophic muscle through U7 snRNA-mediated exon skipping », *Science*, 306, 1796, (2004)
- Hacien-Bey-Abina S., van Kalle C., Schmidt M. *et al.* : « LMD2 associated clonal T cell proliferation in two patients after gene therapy for SCID-X1 », *Science*, 302, 415, (2003)
- Jordan B. : « Thérapie génique : espoir ou illusion ? », *Odile Jacob*, (2007)

II.1.3. Cellules souches et thérapie cellulaire

II.1.3.1. CONSIDÉRATIONS GÉNÉRALES SUR LA BIOLOGIE DU DÉVELOPPEMENT – CELLULES SOUCHES – THÉRAPIE CELLULAIRE

- Ameisen J.-C. : « La sculpture du vivant », le Seuil, (1999)
- Buckingham M.E. : « Actin and myosin gene families, their expression during the formation of the skeletal muscle », *in* « Essays in Biochemistry », 20, 78, (1985)
- Cohen J.J. : « Apoptosis », *Immunology today*, 14, 126, (1993)
- Ghering W. : « The homeobox : a key to understanding development ? », *Cell*, 40, 3, (1985)
- Gros F. : « Les secrets du gène », Odile Jacob – Le Seuil, (1986)
- Jacob F. : « La mouche, la souris et l'Homme », Odile Jacob, (1997)
- Klarsfeld A. and Revah F. : « Biologie de la mort », Odile Jacob, (2000)
- Lassar A.B., Buskin J.M., Lockshon D., Davis R.L., Apone S., Hauschka S.D. and Weintraub H. : « MyoD is a sequence specific binding protein requiring a region of myc homology to bind to the muscle creatine kinase promoter », *Cell*, 58, 823, (1989)
- Lawrence P.A. : « The cellular basis of segmentation insects », *Cell*, 26, 3, (1981)
- Le Douarin N.M. : « Des chimères, des clones et des gènes », Odile Jacob, (2000)
- Le Douarin N.M. : « The neural crest », Cambridge Univ. Press, (1982)
- Morata G. and Lawrence P.A. : « Homeotic genes, compartment and all determination *Drosophila* », *Nature*, 265, 211, (1977)
- Spierer P. and Goldschmidt-Clermont : « La génétique du développement de la mouche », *La Recherche*, 16, 453, (1985)
- Wolpert L. : « Positional information and spatial patterns of cellular differentiation », *J. Theoretic Biol.*, 25, 1, (1969)

II.1.3.2. CELLULES SOUCHES ADULTES

● *Cellules souches hématopoïétiques*

- Coulombel L. : « Les cellules souches adultes et leurs potentialités d'utilisation en recherche et en thérapeutique, cellules souches hématopoïétiques et cellules souches mésenchymateuses », Rapport au Ministre de la Recherche, p. 15, (2001)
- Peault B., Oberlin E. and Tavian M. : « Emergence of hematopoietic stem cells in the human embryo. », *C.R. Biologies*, 325, 1021, (2002)
- Prockop D.J. : « Marrow stromal cells as stem cells for non hematopoietic tissues », *Science*, 276, 71, (1997)

- *Autres types de cellules souches adultes*

Montarras D. *et al.* : « Direct isolation of satellite cells for skeletal muscle repair », *Science*, 309, 2064, (2005)

Peschanski M. : « Les cellules souches adultes et leurs potentialités d'utilisation en recherche et en thérapeutique, comparaison avec les cellules souches embryonnaires », *in* « Neurones fœtaux », Rapport au Ministre de la Recherche, p. 44, (2001)

Rochat A., Kobayashi K. and Barrandon Y. : « Location of stem cells of human hair follicles by analyses », *Cell*, 76, 1063, (1994)

- *Cellules souches neurales*

Gage F.H. : « Mammalian neural stem cells », *Science*, 287, 1433, (2000)

Mc Kay R. : « Stem cells in the central nervous system », *Science*, 276, 66, (1997)

Temple B. : « The development of neural stem cells », *Nature*, 414, 112, (2001)

- *Plasticity*

Bjornson C.R., Rietzo R.L., Reynolds B.A., Magli M.C. and Vescov A.L. : « Turning brain into blood : a hematopoietic fate adopted by adult neural stem cells in vivo », *Science*, 283, 534, (1999)

Blau H.M. and Blakely B.T. : « Plasticity of cell fate: insights from heterokaryons », *Semin. Cell. Dev. Biol.*, 10, 267, (1999)

Ferrari G., Cusella de Angelis G., Coletta M. *et al.* : « Muscle regenerated by bone marrow-derived progenitor », *Science*, 279, 1528, (1998)

Lagasse E., Connors H., Al Dhalimy *et al.* : « Purified hematopoietic stem cells can differentiate into hepatocytes in vivo », *Nat. Med.*, 6, 1229, (2000)

Pettersen B.E., Bowen W.C., Patrene K.D. *et al.* : « Bone marrow as a potential source of hepatic oval cells », *Sciences*, 284, 1168, (1989)

Wilmuth I., Schieke A.E., Mc Whir J., Kind A.J. and Campbell K.H. : « Viable offspring derived from fetal and adult mammalian cells », *Nature*, 385, 810, (1997)

Woodbury D., Schwartz E., Prockop D. and Black I. : « Adult rat and human bone marrow stromal cells can differentiate into neurons », *J. Neurosc. Res.*, 61, 3264, (2000)

II.1.3.3 CELLULES SOUCHES EMBRYONNAIRES

- *Historique*

Capecchi M.R. : « High efficiency transformation by direct mice infection of DNA into cultured mammalian cells » *Cell*, 22, 479, (1980)

Evans M.J. and Kaufman M.H. : « Establishment in culture of pluripotent cells from mouse embryos », *Nature*, 292, 154, (1981)

- Evans M.J. : « Origin of mouse embryonal carcinoma cells and the possibility of their direct isolation into tissue culture », *J. Reprod. Fert.*, 62, 625, (1981)
- Kappler S. : « Ciblage de gène: une avancée dans la compréhension du vivant », *in Découverte*, n° 355, 50, (2008)
- Martin G. : « Isolation of a pluripotent cell line from early mouse embryos cultured in medium conditioned by teratocarcinoma cells », *Proc. Nat. Acad. Sci. (USA)*, 78, 7634, (1981)
- Mintz B. and Illmensee K. : « Normal genetically mosaic mice produced from malignant teratocarcinoma cells », *Proc. Nat. Acad. Sci. (USA)*, 72, 3585, (1975)
- Stevens L.C. : « Experimental production of testicular teratomas in mice », *Proc. Nat. Acad. Sci. (USA)*, 52, 654, (1964)
- Stevens L.C. : « The development of transplantable teratocarcinoma from intra-testicular grafts of pre-and post fertilization mouse embryos », *Dev. Biol.*, 21, 364, (1970)

● *Découverte des cellules souches embryonnaires humaines et applications potentielles*

- Donovan J. and Gearhardt J. : « The end of the beginning for pluripotent stem cells », *Nature*, 414, 92, (2001)
- Le Douarin N.M. : « Thérapie cellulaire régénérative », *in « Lettre de l'Académie des sciences »*, n° 20, (2006)
- Shamblott M.J., Axelman J., Wang S., Bugg E.M., Littlefield J.W., Donovan P.J., Blumenthal P.D., Huggins G.R. and Gearhardt J. : « Derivation of pluripotent stem cells from cultured primordial stem cells », *Proc. Nat. Acad. Sci. (USA)*, 95, 13726, (1998)
- Thomson J.A., Itskovity Eldor J., Shapiro S.S., Waknitz M.A., Swiergiel J.J., Morshall V.S. and Jones J.M. : « Embryonic stem cell lines derived from human blastocytes », *Science*, 282, 1145, (1998)

● *Risques*

- ISCF Ethics working party Letter – Oocyte donation for stem cell research, *Science*, 316, 368, (2007)
- National Academies of Science – Assessing the medical risks of human oocyte donation for stem cell research : working report, N.A.S., Washington, USA, (2007)
- Pearson H. : « Health effects of egg donation may take decades to emerge », *Nature*, 422, 608, (2006)

● *Transfert nucléaire somatique*

- Campbell K.H. *et al.* : « Sheep cloned by nuclear transfer from a cultured cell line », *Nature*, 380, 64, (1996)

- Gurdon J.B., Laskey R.A. and Reeves O.R. : « The developmental capacity of nuclei transplanted from keratinized skin cells of adult frogs », *J. of Embryol. and Exper. Morphol.*, 10, 622, (1962)
- Rideout W., Egan K. and Jeanisch R. : « Nuclear cloning and epigenetic reprogramming of the genome », *Nature*, 293, 1093, (2001)
- Wakayama T. *et al.* : « Differentiation of embryonic stem cell lines generated from adult somatic cells by nuclear transfer », *Science*, 292, 740, (2001)

II.1.3.4. ASPECTS ÉTHIQUES DANS L'UTILISATION DES CELLULES SOUCHES EMBRYONNAIRES

- « Interspecies embryos », The Academy of Medical sciences, a report by the Academy of medical science, (juin 2007)
- De Coppi P. *et al.* : « Isolation of amniotic stem cell lines with potential for therapy », *Nature Biotechnology*, 25, 100, (2007)
- Fagniez P.-L. : « Cellules souches et choix éthiques », Rapport au Premier Ministre, la Documentation française, (2006)
- Guan K. *et al.* : « Pluripotency of spermatogonial stem cells from adult mouse testis », *Nature*, 440, 119, (2006)
- Maherall N. *et al.* : « Directly reprogrammed fibroblasts show global epigenetic remodelling and widespread tissue contribution », in press
- Sureau C. : « Cellules souches embryonnaires, aspects spécifiques, médicaux et éthiques », Journée Commune Académie nationale de médecine-Académie des sciences, *Bull. Acad. nat. Méd.*, 184, 1139, (2000)
- Takahashi K. and Yamanaka S. : « Induction of pluripotent stem cells from mouse embryonic and adult fibroblast cultures by defined factors », *Cell*, 126, 663, (2006)
- Wernig M., Meissner A., Foreman R., Brambrink T., Ku M., Hochedlinger K., Bernstein B.E. and Jaenisch R. : « In vitro reprogramming of fibroblasts into a pluripotent ES-cell-like state », *Nature*, 448 (7151), 318, (2007)

II.1.4. Vieillesse – Sénescence – Mort cellulaire – Cancers

II.1.4.1. VIEILLESSE – CONSIDÉRATIONS GÉNÉRALES

- Gros F. : « Sciences et pays en développement : l'Afrique subsaharienne francophone », Rapport RST n° 21 de l'Académie des sciences, EDP Sciences, (2005)
- Léridon H. : « Colloque de l'Académie des sciences sur le vieillissement », (2005)

II.1.4.2. GÉNÉTIQUE ET LONGÉVITÉ

- Baulieu E.E. : « Génération pilule », Odile Jacob, (1990)
- Bernard J. : « Vieillir, Entretiens avec Antoine Hess, » Calmann-Lévy, (2001)

- Friedman D.B. and Johnson T.E. : « A mutation in the age-1 gene in *Caenorhabditis elegans* lengthens life and reduces hermaphrodite fertility », *Genetics*, 118, 75, (1988)
- Kimura K.D. *et al.* : « *daf-2*, an Insulin Receptor-Like Gene That Regulates Longevity and Diapause in *Caenorhabditis elegans* », *Science*, 277, 942, (1997)
- Larsen P.A., Albert P.S. and Riddle D.L. : « Genes that regulate both development and longevity in *Caenorhabditis elegans* », *Genetics*, 139, 1567, (1995)
- Morri J.Z., Tissenbaum H.A. and Ruvkun G. : « A phosphatidylinositol-3-OH kinase family member regulating to diapause in *Caenorhabditis elegans* », *Nature*, 382, 536, (1996)
- *Relations entre génomique et longévité dans l'espèce humaine*
- Edelstein S.J. : « Gènes et longévité », in « des gènes aux génomes », p. 85-90, Odile Jacob, (2002)
- Gros F. : « Génétique, sénescence et mort », in *Mémoires scientifiques, un demi-siècle de Biologie*, Odile Jacob, p. 270-282, (2003)
- Pecca A.A. *et al.* : « A genome wide scan for linkage to human exceptional longevity identifies a locus on chromosome 4 », *Proc. Nat. Acad. Sci. (USA)*, 98, 10 505, (2001)

- *Sur les causes du vieillissement physiologique*
- *Vieillesse moléculaire – Effets des radicaux libres*

Landousy M.T. : « Le protéasome et ses inhibiteurs », *Biofutur*, n° 243, 11, (2004)

II.1.4.3. SÉNESCENCE CELLULAIRE

Kim N.W. *et al.* : « Specific association of human telomerase activity with immortal cells and cancer », *Science*, 266, 2011, (1994)

II.1.4.4. APOPTOSE – MORT CELLULAIRE PROGRAMMÉE

- Ameisen J.C. : « La sculpture du vivant: le suicide cellulaire ou la mort créatrice », *le Seuil*, (1999)
- Ameisen J.-C. : « Apoptose en pathologie humaine », in *Ann. Inst. Past. Actualités*, 11, n° 4, (2000)
- Auboin G., in « *Biologie et Géologie* », *APBG*, n° 3, 485, (2003)
- Bialik S. and Kimchi A. : « The death associated protein kinases: structure, function and beyond », *Ann. Rev. Biochem.*, 75, 189, (2006)
- Duboule D. et Sordino P. : « Des nageoires aux membres : l'apport de la génétique moléculaire du développement dans l'étude de l'évolution de la morphogénèse chez les vertébrés », *Médecine/Sciences*, 12, 147, (1996)
- Ellis R.E., Yuan J.Y. and Horvitz H.R. : « Mechanisms and functions of cell death », *Ann. Rev. Cell. Biol.*, 7, 663, (1991)

- Kerr J.-J. *et al.* : « Apoptosis a basic biological phenomenon with wide ranging implications in tissue kinetics », *Brit. J. Cancer*, 26, 239, (1972)
- Llambi F., Causeret F., Bloch-Gallego E. and Mehlen P. Llambi F., Causeret F., Bloch-Gallego E. and Mehlen P. : « Netrin-1 acts as a survival factor via its receptors UNC5H and DCC », *EMBO J.*, 20, 2715, (2001)

Revue

- Jacotot E., Ferri K.F. and Kroemer G. : « Apoptose et mitochondries: le côté obscur de l'organite », *Ann. Inst. Past. Actualités*, 11, 19, (2000)

II.1.4.5. APOPTOSE ET CANCERS

- Gross A. : « BTD as a double agent in cell life and death », *Cell cycle*, 5, 582, (2006)
- Kamer I. *et al.* : « Proapoptotic BID is an ATM effector in the DNA damage response », *Cell*, 122, 593, (2005)
- Mazelin L. *et al.* : « Netrin-1 controls colorectal tumorigenesis by regulating apoptosis », *Nature*, 431, 80, (2004)
- Reed J.C. : « Dysregulation of apoptosis in cancer », *J. Clin. Oncol.*, 17, 2941, (1999)
- Système Fas/Fas L (voir *Ann. Inst. Past. Actualités*, Apoptose en pathologie humaine)
- Thiebault K., Mazelin L., Pays L., Joly M.O., Scoazec J.Y., Saurin J.C., Romeo G. and Mehlen P. : « The netrin-1 receptors UNC5H are putative tumor suppressors controlling cell death commitment », *Proc. Natl. Acad. Sci. (USA)*, 7, 4173, (2003)

II.1.4.6. MÉCANISMES MOLÉCULAIRES DE L'APOPTOSE

- Ferry L. et Vincent J.-D. : « Qu'est-ce que l'homme ? », Odile Jacob, (2001)
- Gross A. : « Mitochondrial carrier homolog 2 : a clue to cracking the BCL-2 family riddle ? », *Bioenergetics and Biomembranes*, 37, 113, (2005)
- Jacobson M.D., Weil M. and Raff M.C. : « Programmed cell death in animal development », *Cell*, 88, 347, (1997)
- Verhagen A., Ekert P.G., Pakusch M., Silke J., Connolly L.M., Reid G.E., Moritz R.L., Simpson R.J. and Vaux D.L. : « Identification of DIABLO a mammalian protein that promotes apoptosis by binding to and antagonizing IAP proteins », *Cell*, 102, 43, (2000)

II.1.4.7. CANCERS

● *Données épidémiologiques*

- Blaudin de Thé G. : *in* « Sciences et Pays en développement : l'Afrique subsaharienne francophone », RST n° 21, EDP Sciences, p. 103, (2006)
- Blaudin de Thé G. : « Sur la piste du cancer », Flammarion, (1984)

- Burkitt D.P. : « A sarcoma involving the jaws in African children », *Brit. J. Surg.*, 46, 218 ; (1958)
- Ferloy J., Black R., Whelan S.L. and Parkin D.M. : « Cancer incidence in five continents », VIII, IARC, Scientific publication, n° 155, (2003)
- Hardford J.B. : *in* « Changing lives », Biovision-Alexandria, (2006), éd. I.S. Serrageldin, E. Masood, M. El Fahani et A. Massoud, p. 137, (2007)
- Jemal A., Thomas A., Mauray T. and Thun M. : « Cancer statistics », *CA, Cancer. J. Clin.*, 23, (2002)
- Khayat D. : « Les chemins de l'espoir », Odile Jacob, (2003)
- Organisation mondiale de la santé : « World Health Statistics Annual », Genève, OMS, (1996-1998)
- *Biologie du cancer – Oncogènes – Gènes suppresseurs – Systèmes de réparation*
- « Oncogenes and the molecular origine of cancers », Cold. Spring. Harb., Lab. Press, 327, (1989)
- Amundson S.A., Myers T.G. and Fornace A.J. : « Roles for p53 in growth arrest and apoptosis: Putting on the brakes after genotoxic stress », *Oncogenes*, 17, 3287, (1998)
- Bishop J.M. : « Retrovirus and Oncogenes II », *in les prix Nobel*, Almqvist and Wiksell, 220, (1989)
- Bishop J.M. : « Oncogenes and clinical cancer », *in Weinberg*, édit. R.A.
- Hanahan D. and Weinberg R.A., « The hall marks of cancer », *Cell*, 100, 57, (2000)
- Kastan M.B., Onyekewere O., Sidransky D., Vogelstein B. and Craig R.W. : « Participation of p53 protein in the cellular response to DNA damage », *Cancer Res*, 51, 6304, (1991)
- Levine A. : « The cellular gate keeper for growth and division », *Cell*, 88, 53, (1997)
- Monier R. : « Aspects fondamentaux: mécanismes de cancérogénèse et relation dose-effet », *C.R. Acad. Sci.*, 323, 603, (2000)
- Stehelin D., Varmus H.E., Bishop J.M. and Vogt P.K. : « DNA related to transforming gene(s) of avian sarcoma viruses is present in normal avian DNA », *Nature*, 260, 170, (1976)
- Varmus H.E. : « An historical overview of oncogenes », *in Weinberg R.A. édit.*, « Oncogenes and the molecular origins of cancer », Cold. Spring. Harb., Lab. Press, 3, (1989)
- Varmus H.E. : « Retroviruses and oncogenes I », *in Les prix Nobel*, Almqvist and Wiksell, 194, (1989)
- *Systèmes de réparation et cancer*
- « Le réparosome », *Biofutur*, 271, 17-48, (2006)
- Boiteux S., Castaing B. et Radicella P. : « BER : mécanismes moléculaires et rôles biologiques », *Biofutur*, 271, 35, (2006)

● *Facteurs épigénétiques*

- Feinberg A.P. and Vogelstein B. : « Hypomethylation distinguishes genes of some human cancers from their normal counterparts », *Nature*, 301, 89, (1983)
- Gaudet F. *et al.* : « Induction of tumors in mice by genomic hypomethylation », *Science*, 300, 489, (2003)
- Herman J.G. and Baylin S.B. : « Gene silencing in cancer in association with promoter hypermethylation », *New. Engl. J. Med.*, 349, 2042, (2003)
- Holliday R. and Pugh J.E. : « DNA modification mechanisms and gene activity during development », *Science*, 187, 226, (1975)
- Jones P.A. and Baylin S.B. : « The fundamental role of epigenetic events in cancer », *Nat. Rev. Genet.*, 3, 415, (2002)
- Riggs A.D. : « X inactivation, differentiation, and DNA methylation », *Cyto-genet. Cell Genet.*, 14, 9, (1975)

● *Contrôle épigénétique de la différenciation chez les cellules souches de cancers*

- Cui H. *et al.* : « Loss of IGF2 imprinting : a potential marker of colorectal cancer risk », *Science*, 299, 1753, (2003)
- Di Croce L, Raker V.A., Corsaro M., Fazi F., Fanelli M., Faretta M. *et al.* : « Methyltransferase recruitment and DNA hypermethylation of target promoters by an oncogenic transcription factor », *Science*, 295, 1079, (2002)
- Feinberg A.P., Ohlsson R. and Henikoff S. : « The epigenetic progenitor origin of human cancer », *Nature, Rev. Genet.*, 7, 21, (2006)
- Hochedlinger K, Belloch R., Brennan C., Yamada Y., Kim M., Chin L. and Jaenisch R. : « Reprogramming of a melanoma genome by nuclear transplantation », *Genes Dev.*, 18, 1875, (2004)
- Kleinsmith L.J. and Pierce J.G.B. : « Multipotentiality of single embryonal carcinoma cells », *Cancer Res.*, 24, 1544, (1964)
- Levan A. and Hauschka T.S. : « Endomitotic reduplication mechanisms in ascites tumors of the mouse », *J. Natl. Cancer Inst.*, 14, 1, (1953)
- Li L., Connelly M.C., Wetmore C., Curran T. and Morgan J.I. : « Mouse embryos cloned from brain tumors », *Cancer Res.*, 63, 2733, (2003)
- Lotem J. and Sachs L. : « Epigenetics and the plasticity of differentiation in normal and cancer stem cells », *Oncogene*, 25, 7663, (2006)
- Marks P.A., Rifkind R.A., Richon V.M., Breslow R., Miller T. and Kelly W.D. : « Histone deacetylases and cancer: causes and therapies », *Nat. Rev. Cancer*, 1, 194, (2001)
- Reik W., Dean W. and Walter J. : « Epigenetic reprogramming in mammalian development », *Science*, 293, 1089, (2001)

- Sachs L. : « The control of hematopoiesis and leukemia: from basic biology to the clinic », *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 93, 4742, (1996)
- Surani M.A. : « Reprogramming of genome function through epigenetic inheritance », *Nature*, 414, 122, (2001)

II.2. AGRICULTURE – NUTRITION

II.2.1. Nourrir la communauté des hommes – Les données du problème et les défis à relever

- Persly G.J., Peacock J. and Van Montagu M. : « Biotechnology and sustainable agriculture », *in* Series on Sciences for sustainable development, ICSU, n° 8, (2002)
- Pinstrup-Andersen P., Plandya-Lorch R. and Rosegrand M.W., « World Food Prospects: critical issues for the Early twenty first century », *International Food Policy, Research Institute*, (1999)

Revues

- « Sciences et pays en développement – Afrique subsaharienne francophone », sous la direction de F. Gros, Académie des sciences, Rapport sur les Sciences et les Technologies n° 21, EDP Sciences, (2006)
- « L'eau pour tous – l'eau pour la vie – le nouveau courrier », UNESCO n° 3, (oct. 2003)

II.2.2. Une crise alimentaire mondiale – Le retour de la faim

- Jacquet P. : « Le retour de la faim », *Sciences au Sud, Le journal de l'IRD*, n° 44, p. 1, (avril-mai-juin 2008)

II.2.3. Apports de la génomique

- Cushman J.-C. and Bohnert H.J. : « Genomic approaches to plant stress tolerance », *Current Opinion in Plant Biology*, 3, 117, (2000)
- Douce R. (animateur) : « Le monde végétal – Du génome à la plante entière », Académie des sciences, Rapport TST, n° 10, Tec et Doc, (2000)
- Durand-Tardif M., Candresse Th. : « Apport de la génétique à la protection des plantes », *Biofutur*, 242, 16, (mars 2004)
- Glazenbrook J. : « Genes controlling expression of defence responses in Arabidopsis », *Current opinion in Plant Biology*, 2, 280, (1999)
- Kush G.S. : « Green revolution preparing for the 21st century », *Genome*, 42 (4), 646, (1999)
- Sasson A. and Elliott M.C. : « Agricultural biotechnology for developing countries: a strategic overview », *in* Christou P. and Klee A. édit.,

H. Handbook of Plant biotechnology, John Wiley and sons, p. 2001, (2004)

II.2.4. Les plantes transgéniques – Quelques données générales

Badr E. : « GM crops, Food security and the environment », in « Changing lives », Biovision Alexandria, (2006), I. Serrageldin and E. Méasood eds with M. El-Fahan and A. Massoud, Bibliotheca Alexandrina Cataloging in publication data, p. 217, (2007)

Clive J. : « A decade of Agricultural Biotechnology », in Changing lives, *op. cit.*, p. 235, (2007)

Fernandez-Cornjio J. and Cawell M. : « The first decade of genetically engineered crops in the United States », USDA Economic information bulletin, n° 11, p. 1-36, available at : <http://www.ers.usda.gov>

Persley G. and Siewdow J. : « Applications of Biotechnology to crops: benefits and risks », in Ruse M. and Castle E. edit., Genetically modified foods, Prometheus Books, p. 221, (2002)

- *Principales modifications introduites par transgénèse végétale à des fins agricoles*

Clive J. : « Tolérance aux herbicides », *op. cit.*, p. 237

- *Sécheresse et salinité*

AGERI 2005 : « Broding triticum durum in Mediterranean region by using in vitro and genetic transformation tools », available at <http://www.ageri.sci.eg/topic6/durum.htm>

CIMMIYT 2003, « Drought relief, Seed Relief in Sight », available at <http://www.cimmyt.cgiar.org/whatisimmyt/recentar/Dsupport/drought.htm>

CIMMY 2004, « Molecular approaches for the genetic improvement of cereals for stable production in water limited environment », J.-M. Ribaud and D. Poland eds, (2004)

FAO 2003 : « Report of the FAO expert consultation on Environmental effects of genetically modified crops », FAO, (16-18 June 2003)

Garg A.K., Kim J.K., Owens T.G., Ranvala A.P., Choi Y.D., Kocian L.V. and Wu R.J. : « Trehalose accumulation in rice plants confers high tolerance levels to different abiotic stress », Proc. Nat. Acad. Sci., USA, 99, 15 898, (2002)

Johnson B. : « Potential environmental impacts from Novel Crops », in Changing lives, *op. cit.*, p. 224, (2007)

Madkour M. : « Harnessing new science to meet the challenges of Drought », in Changing lives, *Op. Cit.*, p. 299, (2007)

Su J., Shen Q., Ho T. H.D. and Wu R. : « Dehydration-stress-regulated transgene expression in stably transformed rice plants », Plant Physiol., 117, 913, (1998)

● *Autres caractéristiques*

Hayakawa, Zhu Y., Ito K, and Kimura Y. : « Genetically engineered rice, resistant to rice stripe virus, an insect transmitted virus », *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 89, 9865, (1992)

Nena Vishvanath : « Protecting live stock through genomics », in *changing lives*, *op. cit.*, p. 241, (2007)

● *Physiologie globale – Qualité nutritive*

Abbott J.C., Barakate A., Pincon G., Legrand M., Lapierre C., Mila I., Schuch W. and Halpin C. : « Simultaneous suppression of multiple genes by single transgenes – Down regulation of three unrelated lignin biosynthesis genes in tobacco », *Plant Physiol.*, 128, 844, (2002)

Cobbett C.S. : « Phytochelatins and their roles in heavy metal detoxification », *Plant Physiology*, 123, 825, (2000)

Ku M.S.B. *et al.* : « High levels expression of maize phosphoenol pyruvate carboxylase in transgenic rice plants », *Nature, Biotechnology*, 17, 76, (1999)

Mann C.C. : « Genetic engineers aim to soup up crop photosynthesis », *Science*, 283, 314, (1999)

Matsuoka *et al.* (2001), cité dans l'article de Elliott M., Sasson A. et Cockburn A. : « Starvation, obesity or optimized diets : which way for nutrition ? », in *Changing lives*, *op. cit.*, p. 249, (2007)

Stark D.M. *et al.* : « Regulation of the amount of starch in plant tissues by ADP glucose pyrophosphorylase », *Science*, 285, 287, (1992)

● *Transgénèse et santé*

Acharya T., Daar A.S., Thorsteindottir H., Dowdeswell E. and Singer P.A. : « Strengthening the role of genomics in global Health », *Plos Medicine*, 1, n° 3, E-40, (2004)

Falco S.C. *et al.* « Transgenic canola and soybean seeds with increased lysine », *Biotechnology*, 13, 577, (1995)

Hoa *et al.* (2003), cité dans « Elliott M., Sasson A. et Cockburn A. », in *Changing lives*, (2007)

Larrick J.W. and Thomas D.W. : « Producing proteins in transgenic plants and animals », *Current Opinion in Biotechnology*, 12, 411, (2001)

Ye X.S. *et al.* : « Engineering the provitamin A (beta carotene), biosynthetic pathway into (carotenoid-free) rice endosperm », *Science*, 287, 303, (2000)

● *Espoirs, Réserves – Risques potentiels*

FAO, 2003b : « Report of the FAO Expert, consultation on Environmental effects of Genetically modified crops », FAO, (June 2003)

Johnson B.R. : « Gene flow from crops to crops and from crops to wild relatives – does it matter ecologically ? », *Aspects of Applied Biology*, 74,

- G. Crops, Ecological dimension, eds. Van Emlen, H.F. *et al.*, p. 53, (2004)
- Khush G.S. and Ma J. : « Crop biotechnology for developing countries : opportunity and duty », *in* Christon P. and Klee H. (eds), Handbook of plant Biotechnology, John Wiley and Sons, p. 1313, (2004)
- Rousoh R. : « Can we stop adaptation pests to insect transgenic crops ? », *in* Biotechnology and integrated pest management, G. Persley, CABI internat., p. 242, (1996)
- Sasson A. and Elliott M.C. : (cf. référence *in* II.2.3.)
- Swaminathan M.S. : « An evergreen revolution », *Biologist*, 47, n° 2, 85, (2000)
- Van Montagu M. and Bursens S. : « From molecular genetics to Plants for the future », Library of Alexandria conference on Biotechnology and sustainable development : voices of the South and North, (March 2002)

II.3. ÉNERGIES

II.3.1. Défis énergétiques – Effets de serre – Énergies renouvelables – Biocarburants

II.3.1.1. DÉFIS ÉNERGÉTIQUES CHANGEMENTS CLIMATIQUES

- « Évolution des climats », la Lettre de l'Académie des sciences, n° 21, (2007)
- « Remous sur les biocarburants », *in* RDT-Info, Magazine de Recherche européenne, p. 30, (2006)
- Ballerini D. : « les Biocarburants », *in* « Anticiper les ruptures », Découverte *op.cit.*, p. 66, (2007)
- Estèves B. and Almeida C. : « Les Biocarburants en question », *Biofutur*, 288, 48, (2008)
- Fagione J. *et al.* : « Land clearing and the biofuel carbon debt », *Science*, 319, 1235, (2008)
- « Réchauffement climatique : impact sur les maladies infectieuses à vecteur », *in* ECRIN, Recherche-Technologie, Société, n° 68, p. 22, (2007)
- Sales C. : « Énergie ; les promesses de la biomasse », *in* La Recherche, n° 406, Recherche pour le développement un enjeu mondial, p. 24, (2007)
- Searchinger T. *et al.* : « Use of US croplands for biofuels increases greenhouse gases through emissions from land-use change », *Science*, 319, 1238, (2008)
- Solomon I. et Gros F. : « Énergie solaire et santé dans les pays en développement », *Acad. Sci.*, Colloque COPED-UNESCO, Tec et Doc Lavoisier, (2004)
- Tissot B., *in* « Énergie 2007-2050, Les choix et les pièges », Académie des sciences, B. Tissot, 10, (2007)

Varène V. : « Énergies – anticiper les ruptures », *in* Découverte, Revue du Palais de la Découverte, n° 344-345, p. 10, (Janvier-février 2007)

II.3.2. Biodiversité

II.3.2.1. CONNAISSANCE ET PROTECTION DE LA BIODIVERSITÉ

II.3.2.1.1. Données générales – Menaces et préoccupations pour un patrimoine commun

Bastos Da Veiga J. *et al.* : « La longue marche de l'Agriculture durable en Amazonie », *ibid.*, p. 28, (2007)

Boisvert V., Bazile D. : « Biodiversité, des codes de bonne conduite », *in* La Recherche, n° 406, p. 26, (2007)

Coquart J. : « Menaces sur la Biodiversité – Les réponses de la Science », *Journal du NCRS*, n° 180, 18, (2005)

Gilman N., Randall D. and Schwartz P. : « Impacts of climat change », *Global Business Network*, (juin 2007)

Lévêque C. et Mounolou J.-C. : « Biodiversité – Dynamique biologique et conservation », *Masson Sciences, Dunod*, (2001)

Marjorie L., Reaka-Kudla W., Don E. and Wison E.O. : « Understanding and protecting our biological ressources », *Biodiversité II*, Joseph Henry Press, (1997)

Testard Vaillant P. : « 5 défis pour la biodiversité », *Journal du CNRS*, n° 196, 18-27, (2006)

Wilson E.O. : « La diversité de la vie », *Odile Jacob*, (1993)

II.3.2.1.2. La variété des espèces vivantes – Une exploration inachevée

Académie des sciences : « Biodiversité et environnement », *Rapport n° 33*, (1995)

Académie des Sciences : « Systématique ; ordonner la biodiversité », *Rapport sur la Science et la Technologie*, n° 11, Tec et Doc, (2000)

II.3.2.1.3. Relations phylogénétiques – Comparaisons génomiques

De Long E.F. : « Archaea in coastal marine environments », *Proc. Natl. Acad. Sci. (USA)*, 89, 5685, (1992)

Larsen N., Olsen G.J., Maidak B.L., McCaughey M.J., Overbeek R., Macke T.J., Marsh T.L. and Woese C.R. : « The ribosomal data base project », *Nucleic Acid Res.*, 21 (suppl.), 3021, (1993)

Leipe D.D.O., Wainright J.H. *et al.* : « The stramenopiles from a molecular perspective: 16S – like rRNA sequences from *Labyrinthuloides minuta* and *Cafeteria roenbergensis* », *Phycologia*, 33, 369, (1994)

- Sogin M.L. and Hinkle G. : « Common measures for studies of Biodiversity: molecular phylogeny in the eukaryotic microbial world », in Biodiversity II, Understanding and protecting our biological resources, *op. cit.*, chapter 8, p. 109, (1997)
- Sogin M.L. : « Evolution of eukaryotic micro-organisms and their small subunit ribosomal RNAs », *Amer. Zool.*, 29, 487, (1989)

II.3.2.1.4. *Génomique et Biodiversité végétale*

- Delseny M. : « Re-evaluating the relevance of ancestral shared synteny as a tool for crop improvement », *Curent Opin. Plant Biol.*, 7, 126, (2004)
- Quétier F., Salanoubat M. and Weissenbach J. : « Le séquençage des génomes nucléaires des plantes », in *Biofutur*, 265, 27, (2006)

II.3.2.1.5. *Génomique et biodiversité animale*

II.3.2.1.6. *Biodiversité des micro-organismes – Métagénomique*

- « Prevalence of Plant Pathogenic viruses », *PLos Biology*, 4, 0108, (2006)
- Brettbart M. *et al.* : « Metagenomic Analyses of an Uncultured Viral Community from Human Feces », *J. of Bactériol.*, 185, 6220, (2003)
- Delong E.F. : « Microbial community genomics in the ocean », *Nature Rev./ Microbiol.*, 3, 459, (2005)
- Fraser C.M. *et al.* : « Complete genome sequence of *Treponema pallidum*, the syphilis spirochete », *Science*, 281, 375, (1998)
- Gewin V. : « Discovery in the dirt », *Nature publishing Group*, p. 384, (2006)
- Hallam S.J. *et al.* : « Reverse Methanogenesis: testing the hypothesis with environmental genomics », *Science*, 305, 1457, (2004)
- INRA-Dossier « Les Recherches de l'INRA sur la flore digestive », n° 14, (mai 2006)
- Rondon M.R. *et al.* : « Cloning the soil metagenome : a strategy of assessing the genetic and functional diversity of uncultured micro-organisms », *Applied and Environmental Microbiol.*, 66 (n° 6), 2541, (2000)
- Strous M. *et al.* : « Deciphering the evolution and metabol. of an anaerobic bacterium from a community genome », (Letter), *Nature Publishing Group*, 440, 790, (2006)
- Tringe S.G. and Rubin E. : « Metagenomics: DNA sequencing of environmental samples », *Nature Reviews, Genetics*, 96, 805, (2005)
- Venter J.C. *et al.* : « Environmental genome shotgun sequencing of the Sargasso Sea », *Science*, 304, 66, (2004)
- Vignais P. : « Science expérimentale et connaissance du vivant », *EDP sciences*, p. 268, (2006)