

## La transgénèse animale et ses applications

Louis-Marie Houdebine

La maîtrise des techniques de génie génétique, acquise pour l'essentiel il y a quinze ans, ont très tôt fait envisager des applications sans précédent, y compris pour l'agriculture. La biologie paraissait entrer dans une phase de développement que d'autres domaines de la science avaient connue au début de ce siècle. La connaissance approfondie de l'ADN permet en effet de mieux connaître les organismes vivants y compris les agents pathogènes, et de modifier le patrimoine génétique d'un être vivant, en lui transférant un gène isolé. Le transfert de gène dans des cellules isolées par un processus non infectieux et donc purement physicochimique ou mécanique (transfection) est rapidement apparu relativement simple dans des conditions expérimentales. Ces techniques, qui sont devenues une routine dans bon nombre de laboratoires, apportent quotidiennement une moisson d'informations sur le fonctionnement des gènes et sur leur rôle dans la vie d'une cellule. La thérapie génique qui consiste à introduire dans un organisme vivant des cellules somatiques qui, *in vitro*, ont reçu un gène étranger soulève de grands espoirs en médecine humaine pour corriger des défauts génétiques sans altérer le patrimoine génétique de l'individu. La thérapie génique, dont le maniement est encore délicat et coûteux sous ses for-

mes actuelles, n'a que peu d'impact potentiel sur l'élevage. La possibilité de transférer directement de l'ADN nu dans les cellules d'un tissu chez un animal entier ouvre toutefois des perspectives nouvelles très intéressantes en particulier pour la vaccination. Il est en effet possible d'introduire de l'ADN nu dans les cellules musculaires par injection directe dans le tissu et dans *a priori* n'importe quel tissu par bombardement à l'aide de particules métalliques recouvertes d'ADN [1]. Cette dernière technique s'est avérée capable, chez la souris, d'induire la formation d'anticorps contre l'hormone de croissance humaine [2]. La transgénèse, qui consiste à transférer un fragment d'ADN étranger dans le génome d'un organisme de manière à ce qu'il s'y exprime et soit transmis à sa descendance est une opération en principe définitive et donc propre à créer de nouvelles races d'animaux (et pour cette raison non envisageable chez l'homme dans un avenir prévisible). Le code génétique étant universel, il est possible de quérir un gène dans n'importe quel organisme vivant (et même de le faire par synthèse chimique) et de le voir s'exprimer dans n'importe quelle espèce animale (*figure 1*) (à condition bien entendu que les régions régulatrices des gènes, dont le fonctionnement est en partie spécifique d'espèce, soient adaptées à l'animal que l'on veut rendre transgénique). Des obstacles techniques limitent encore considérablement l'utilisation de la transgénèse en dehors des quelques espèces de laboratoire. Cet article se propose de faire le point sur les problèmes posés par la transgénèse et sur les espoirs qu'elle a suscités.

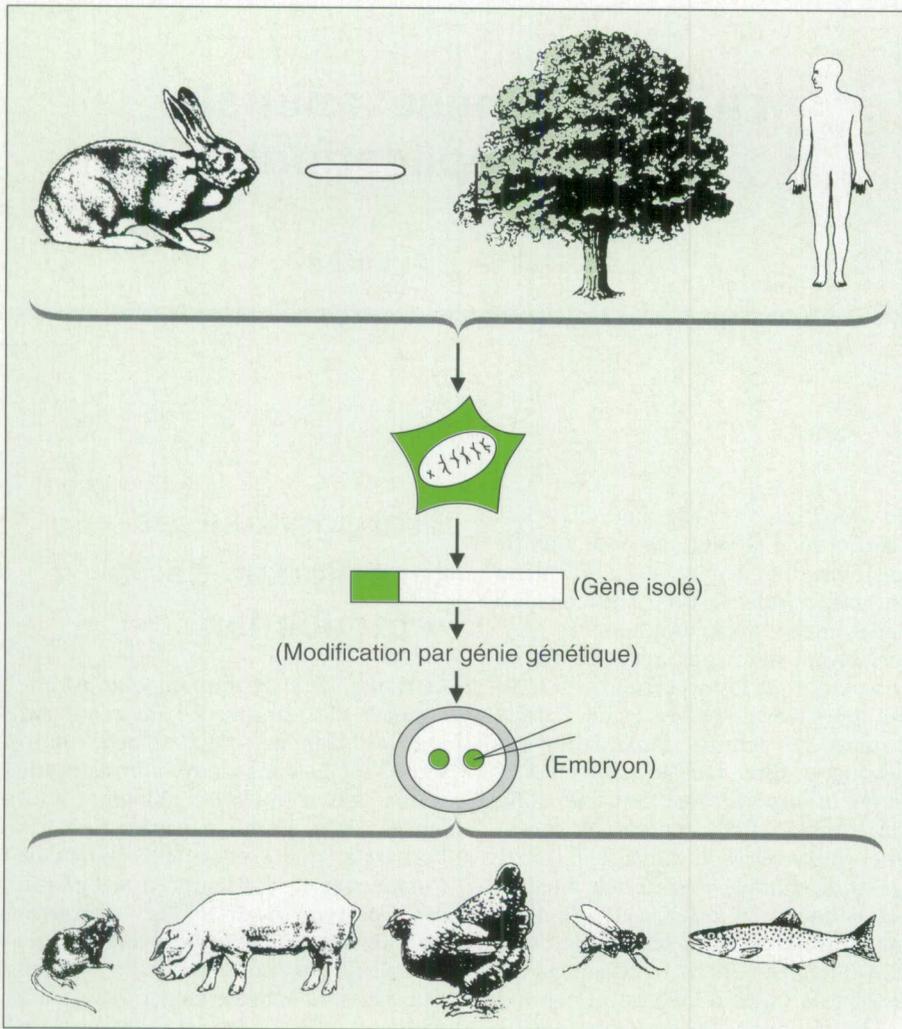
### Transgénèse et techniques de la reproduction

La transgénèse impliquant que le gène étranger soit transmis à la descendance, il est infiniment souhaitable de transférer l'ADN dans l'embryon au stade d'une cellule (ou éventuellement dans les gamètes avant la fécondation) si l'on veut que toutes les cellules de l'organisme et donc ses cellules germinales portent cet ADN. Les méthodes de transfection appliquées aux cellules en culture sont toutes d'un rendement trop faible et souvent trop traumatisantes pour pouvoir être appliquées à un matériel aussi précieux et coûteux que l'embryon. Il convient donc d'utiliser les méthodes les plus performantes, qui ne sont pas forcément les plus simples.

#### La micro-injection

La micro-injection directe d'une solution d'ADN dans un des pronuclei de l'embryon est la méthode la plus efficace chez les mammifères et la seule pratiquée en routine. Elle consiste à injecter 1 pl contenant 200-500 copies du gène isolé dans des embryons obtenus le plus souvent par superovulation et à transférer ces embryons dans des mères adoptives. Le rendement de ces opérations est faible depuis dix ans, avec très peu d'espoir d'amélioration significative. En effet, environ 10-15 % des embryons survivent à ces opérations et parmi les survivants 0-20 % des nouveau-nés sont transgéniques, selon l'habileté des expérimentateurs

L.-M. Houdebine : Unité de différenciation cellulaire, INRA, 78352 Jouy-en-Josas Cedex, France.



◀ **Figure 1.** Le transfert de gène peut théoriquement se faire à partir de n'importe quel organisme vivant et en principe à n'importe quelle espèce animale. En pratique, la transgénèse n'est encore réalisée que chez un nombre très limité d'espèces.

**Figure 1.** Theoretically, gene transfer can be performed from any living organism to any animal species. In practice, transgenesis was carried out only in a very limited number of animal species.

**Figure 2.** Les différentes techniques de la reproduction animale. La maîtrise de la maturation des ovocytes et de la fécondation *in vitro* permet de fournir aux expérimentateurs un grand nombre d'embryons à un coût réduit (d'après Houdebine [4]).

**Figure 2.** The different techniques of reproduction of farm animals. The possibility to obtain *in vitro* oocyte maturation and fertilization provides a large number of embryos at low cost to experimentators.

## Tableau 1

### Efficacité comparée de la transgénèse obtenue chez les mammifères

Différentes espèces de mammifères testées	Nombre d'embryons disponibles par superovulation	Taux de gestation après transfert des embryons micro-injectés (%)	Nombre de femelles donneuses par receveuse d'embryons	Animaux nés par embryons injectés (%)	Animaux ayant intégré le gène (%)	Nombre de femelles nécessaires pour obtenir un animal transgénétique	Nombre de mois pour obtenir des descendants de la génération F <sub>2</sub>
Souris	15	50-60	2	10-20	15	10	7,5
Lapin	20	50-60	2	10	10	15	17
Porc	15	40	2	5-8	10-15	20	38
Mouton	4	40	1,5	15	5-10	40	52
Vache	5	20	1	10	5-10	40	100

L'efficacité de la micro-injection diminue et le prix de revient de la transgénèse augmente pour les gros animaux d'élevage qui ont moins d'embryons que les animaux de laboratoire et dont le temps de reproduction est plus long. (d'après Brem [3]).

#### Efficiency of transgenesis in mammals

(tableau 1 [3]). Si de tels rendements sont pratiquables chez la souris, ils limitent grandement l'utilisation de la micro-injection chez les gros mammifères. Le coût actuel d'obtention d'un lapin transgénique est en effet de 30 000 F, d'un porc 150 000 F, d'un mouton 250 000 F et d'une vache 2 500 000 F. La réduction du coût de production des embryons est donc essentielle. Les laboratoires concernés s'y emploient en progressant vers la maîtrise complète des processus de maturation des ovocytes à partir d'ovaires récupérés dans les abattoirs, de la fécondation et du développement précoce des embryons *in vitro* (figure 2 [4]).

Chez les Vertébrés inférieurs et chez certains Invertébrés comme les oursins, il peut être difficile, voire impossible de visualiser et donc d'atteindre les

pronuclei. Pour des raisons qui ne sont pas bien comprises, il apparaît qu'une injection d'un grand nombre copie de l'ADN étranger (jusqu'à 20 millions de copies) dans le cytoplasme des embryons de ces espèces au stade d'une cellule conduit à l'obtention d'un grand nombre d'animaux transgéniques [5]. L'ADN étranger semble se répliquer intensément aux premiers stades du développement et ne s'introduire que progressivement dans les cellules de l'embryon, ce qui conduit à l'obtention d'animaux le plus souvent mosaïques pour le transgène.

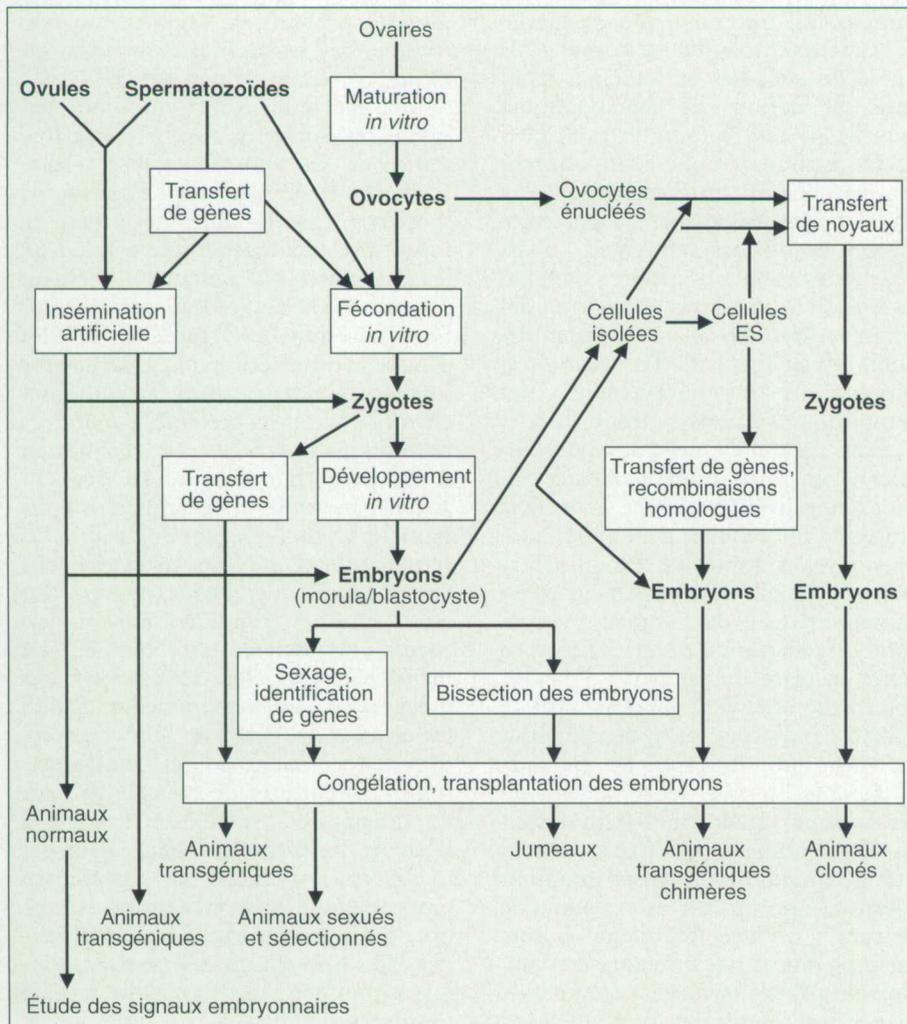
### Les vecteurs rétroviraux

Il était tentant d'utiliser des vecteurs viraux pour transporter et introduire les gènes étrangers. Les rétrovirus, dont le cycle d'infection comporte une intégra-

tion obligatoire du génome viral dans celui de la cellule hôte, sont apparus comme les meilleurs vecteurs potentiels. Ils peuvent effectivement emporter des gènes étrangers jusqu'aux chromosomes de l'hôte. Cette technique est toutefois d'un maniement délicat. La construction des vecteurs comporte différentes étapes exigeantes en particulier en ce qui concerne la sécurité biologique et les rétrovirus ne sont plus guère étudiés que pour les oiseaux, chez lesquels on ne sait toujours pas manipuler les embryons avec autant d'aisance que chez les mammifères [6].

### Les cellules embryonnaires souches (ES)

Il est possible de transférer mécaniquement des cellules d'un embryon dans un autre embryon du même stade de développement. On obtient alors des chimères. Des lignées de cellules embryonnaires souches (ES) ayant gardé leur totipotence, donc leur possibilité d'être réintroduites dans un embryon et de participer à son développement, ont été établies chez la souris. De telles cellules peuvent être le véhicule de gènes étrangers si elles ont reçu l'ADN par transfection classique au cours de la culture. Les animaux qui résultent de ces opérations sont évidemment non seulement chimères mais également mosaïques pour le transgène. Le mosaïcisme disparaît à la génération suivante puisqu'un gamète porte et transmet ou non le transgène. Cette technique peut s'avérer être une alternative intéressante à la micro-injection chez les gros animaux. Elle permet surtout d'exploiter au mieux le phénomène de recombinaison homologue. Chez les Vertébrés supérieurs, 0,1 % des intégrations de gène se fait très exactement dans des séquences homologues de l'hôte. Ce phénomène conduit donc au remplacement d'un gène par un autre et non plus à une simple addition de matériel génétique étranger. Des constructions génétiques spécifiques permettent de sélectionner les cellules ES qui ont subi le phénomène de recombinaison homologue. Cette technique, d'un maniement encore délicat, a permis de préciser le rôle de certains gènes, dans le développement embryonnaire en particulier. Elle laisse envisager la possibilité de faire du génie génétique



d'une manière parfaitement contrôlée chez l'animal entier [7]. Force est de constater toutefois que l'utilisation des cellules ES n'est effective que chez la souris. Si aucun obstacle théorique n'empêche son extension, une bonne maîtrise de la culture des cellules ES reste encore à acquérir pour les autres espèces. Il convient par ailleurs de garder à l'esprit que les cellules ES n'apportent pas seulement le transgène que l'on y a introduit mais tous ses propres gènes. L'origine des cellules ES est donc essentielle si l'on veut obtenir des animaux ayant un patrimoine génétique intéressant en plus du transgène.

### **Le transfert direct de l'ADN aux gamètes**

Il est concevable de transférer l'ADN directement dans les spermatozoïdes avant la fécondation. Une telle approche n'a évidemment de chance de réussir que si une très grande proportion des spermatozoïdes a pu être chargée par l'ADN étranger avant la fécondation. Des expériences consistant à mettre simplement au contact l'ADN en solution et les spermatozoïdes ont montré que l'ADN pénétrait plus aisément qu'on ne l'imaginait dans ces cellules [8]. Il est toutefois très douteux que ce phénomène suffise à engendrer des animaux transgéniques [9]. Une entrée forcée de l'ADN dans les spermatozoïdes avec la technique d'électroporation paraît plus crédible mais reste à confirmer [10, 11].

## **Les applications de la transgénèse animale**

Malgré la relative difficulté de sa mise en œuvre, la transgénèse s'est désormais imposée comme une technique irremplaçable pour des études à caractère fondamental et appliqué [5, 6, 12, 13]. Environ 200 laboratoires publics et privés dans le monde utilisent actuellement la transgénèse.

### **Les études fondamentales**

Aussi performantes que soient les techniques de transfection des cellules en culture et de transcription *in vitro*, rien

ne saurait remplacer la transgénèse pour identifier et étudier certains mécanismes de régulation des gènes. Le transfert d'un gène isolé à un animal entier est également un moyen irremplaçable de connaître l'effet de l'expression de ce gène sur les fonctions biologiques de cet animal. C'est ainsi que chaque semaine apporte sa moisson d'excellentes publications faisant appel à la transgénèse et qui révèlent souvent des phénomènes assez imprévisibles chez un nombre restreint d'espèces animales de laboratoire : souris, drosophile, poissons de laboratoire, xénope, nématode, etc.

### **La création d'animaux modèles pour l'étude des maladies humaines**

Le prolongement naturel des études fondamentales portant sur les gènes et les fonctions biologiques, consiste à tenter d'obtenir par la transgénèse des animaux qui puissent servir de modèles expérimentaux pour étudier la genèse de maladies humaines et pour tenter de définir des thérapeutiques nouvelles. Ainsi voit-on se multiplier les souris transgéniques qui abritent des oncogènes et qui développent des tumeurs dans les organes où est ciblée l'expression de ces oncogènes. Il est également possible de tenter de mimer des maladies humaines autres que des cancers en transférant aux animaux des gènes mutés (gène CFTR muté, responsable de la mucoviscidose par exemple). Des animaux transgéniques peuvent également être devenus sensibles à un virus humain s'ils expriment un gène qui permet à ce virus d'infecter les cellules de l'animal.

Ces nouvelles approches expérimentales sont en plein développement et un nouveau marché de l'animal transgénique de laboratoire est en train de se mettre en place. Les animaux d'élevage sont encore assez peu concernés par ce problème mais tout laisse penser qu'ils le deviendront. En effet, les animaux de laboratoire ont leurs spécificités métaboliques, endocrinologiques, etc. qui ne les rendent pas nécessairement aptes à répondre à toutes les questions posées. Le porc paraît de ce point de vue voué à un assez bel avenir. Encore faut-il prendre la vraie mesure des choses et ne pas croire que les éleveurs de porcs verront leur revenu s'améliorer

grâce à ces élevages très spécialisés, car ils ne sauraient concerner qu'un nombre relativement restreint d'animaux.

Un espoir soulevé par la transgénèse et la recombinaison homologue dans les cellules ES concerne la transplantation d'organes animaux à l'homme. Il est en effet bien connu que la transplantation est grandement limitée par la disponibilité des organes. Il est concevable que le transfert de gènes puisse conduire à « humaniser » des organes de porc et ainsi atténuer ou même supprimer les réactions de rejets qui accompagnent la transplantation. Il s'agit là d'un véritable défi et d'un enjeu considérable dont l'issue est incertaine tant les problèmes théoriques aussi bien que techniques restent nombreux.

### **Les fermenteurs vivants**

La maîtrise de plus en plus avancée du vivant et la nécessité d'utiliser d'avantage les produits de l'agriculture non comme de simples dérivés plus ou moins directement destinés à la consommation tendent à ce que l'on considère les animaux aussi comme une source de molécules de haute valeur. La demande de plus en plus précise de protéines recombinantes de la part de l'industrie pharmaceutique a fait également entrer les animaux d'élevages dans un nouveau créneau commercial. Si les bactéries, les levures, les cellules d'insectes infectées par le baculovirus sont parfaitement aptes à synthétiser en masse certaines protéines comme les hormones de croissance ou l'insuline, il est bien clair qu'elles ne peuvent assumer toutes les transformations post-transcriptionnelles que doivent subir certaines chaînes polypeptidiques pour être activées ou stables *in vivo*. En effet certaines protéines doivent être clivées, glycosylées, phosphorylées ou myristylées, etc. selon des processus très précis pour être fonctionnelles. Seules les cellules de Vertébrés sont capables d'assurer certaines de ces transformations. Les cultures de ces cellules sont de mieux en mieux maîtrisées à l'échelle industrielle. Même dans les meilleures conditions de culture, ce type de cellules ne synthétise qu'une quantité relativement faible de protéines. Dès l'obtention des premiers animaux transgéniques il y a dix ans, la possibilité de les utiliser comme source

## Summary

### Transgenesis and its use in animals

L.-M. Houdebine

*Recent progress in genetic engineering and embryo manipulation allow the introduction of any DNA fragment into the genome of animals including farm animals. Direct microinjection of DNA solution into the pronuclei of embryo is the only techniques used in routine although its efficiency remains limited. The use of retroviral vectors is being studied namely for birds, in which embryo manipulation is not easily done. The use of embryonic stem cells (ES cells) appears very promising. These cells isolated from blastocysts can be cultured without being differentiated. They can be reintroduced into an embryo to generate chimeric animals. Foreign genes can be introduced into the cultured ES cells before they are transplanted into the embryo. Targeted gene transfer can also be achieved with ES cells leading to specific gene replacement. These techniques are being used only in mouse as long as ES cells have not been well characterized in other species. The availability of cow embryos to be used for DNA microinjection can be greatly increased when they are obtained from oocytes which were matured and fertilized in vitro. The same approach can be used for sheep and to some extent for goat and possibly for pig in the future. These new methods considerably facilitate gene studies. Some of these studies are about to become industrial projects. Proteins of pharmaceutical interest can be secreted in milk of laboratory and farm animals, and some of such proteins will be soon commercialized. Livestock animals will also take advantage of these techniques by becoming more resistant to diseases and by getting interesting genetic traits which cannot be provided by the conventional genetic selection. Transgenic laboratory animals and in some cases farm animals, start being used as very interesting biological models for the study of human diseases. Studies in progress aim at generating transgenic animals (pig, sheep) as possible source of organs for transplantation to human beings. It is generally admitted that transgenic animals will have a great impact on breeding in the 21st century.*

*Cahiers Agricultures 1992 ; 1 : 317-24.*

de protéines recombinantes fut évoquée. Cette perspective est en train de devenir réalité, puisque des milliers de brebis synthétisant l' $\alpha_1$ -antitrypsine humaine dans leur lait (concentration de 35 mg/ml) vont progressivement être dans les années qui viennent mises à contribution [14]. Plusieurs fluides biologiques, lait, blanc d'œuf, sang [15], hémolymphe d'insectes, ont été envisagés comme sources de protéines recombinantes [16]. Le blanc d'œuf, bien que bon candidat *a priori*, n'est pas utilisé et il en sera ainsi tant que la transgénèse sera difficile à maîtriser chez les oiseaux. Le lait d'animaux transgéniques est donc actuellement le meilleur système de production de protéines hétérologues *in vivo* mais le succès de cette technique dépend d'un certain nombre de facteurs encore incomplètement maîtrisés. L'expression du gène étranger doit en effet être aussi strictement que possible dirigée vers la glande mammaire pour éviter que les protéines recombinantes ne circulent dans le sang des animaux et altèrent leur santé. Il est tout de même très probable qu'une nouvelle industrie va naître à partir des animaux fermenteurs vivants. Elle procurera du travail et un revenu à certains éleveurs de lapins, moutons, chèvres, porcs et vaches sans que la pratique des élevages dans leur ensemble ne s'en trouve modifiée (tableau 2 [17]). Une étude récente prévoit que le marché mondial des protéines recombinantes issues du lait des animaux représentera 10 % du marché, soit 95 millions de dollars actuels à la fin du siècle. De telles prévisions ne peuvent cependant tenir compte du prix de revient réel des protéines recombinantes sécrétées dans le lait et des progrès des méthodes concurrentes faisant appel aux cellules en culture.

## Tableau 2

### La production de protéines recombinantes dans le lait de différents animaux transgéniques

Animaux transgéniques	Quantité de protéines recombinantes produites dans le lait
Souris	1 g
Lapins	1 kg/an
Chèvres, moutons, porcs	1 kg - 1 tonne/an
Vaches	Plusieurs tonnes/an

La souris transgénique, dont le prix de revient est faible et l'obtention rapide, peut permettre de préparer jusqu'à 1 g de protéine brute en incubant les glandes mammaires isolées des animaux allaitant dans le froid [17]. La lapine qui peut être traitée mécaniquement est d'un prix de revient modéré en comparaison des plus gros animaux, en particulier des ruminants qui, en revanche, sont faciles à traire.

### The production of recombinant proteins in milk of different transgenic animals

### La résistance aux maladies

Les pertes dans les élevages dues aux maladies restent considérables et des gains de productivité très importants sont attendus dans ce domaine. Le génie génétique va permettre de préparer des vaccins beaucoup plus nombreux et sûrs que par le passé. La vaccination ne résoudra toutefois pas tous les problèmes. Certains animaux comme les poissons ou les oiseaux ne peuvent pas être aisément manipulés

en grand nombre. Il n'est de toute façon jamais certain que des anticorps arrivent à protéger efficacement contre un agent pathogène. La transgénèse, en introduisant des gènes de résistance à certaines maladies, peut apporter des solutions d'un type nouveau aux pathologies animales [12].

Les gènes de résistance aux maladies font intervenir des mécanismes cellulaires et moléculaires très variés et le plus souvent mal connus (*tableau 3*). Il est possible d'utiliser un gène de résistance qui se trouve naturellement chez certains représentants d'une espèce animale et de le transférer à d'autres individus via la transgénèse. Ce procédé a l'avantage de s'affranchir

de la transmission des gènes par la voie sexuée et même probablement de franchir la barrière entre espèces. Cette approche prometteuse n'a encore rencontré qu'un succès très limité chez les animaux, eu égard surtout au manque de disponibilité des gènes de résistance.

Plusieurs gènes peuvent conférer une résistance contre une infection virale en interférant avec le mécanisme de replication du virus à une étape ou une autre de sa multiplication à l'intérieur même des cellules. C'est le cas des gènes codant pour une protéine de capsid (ou enveloppe virale), pour les gènes codant pour un ARN antisens, un ribozyme ou une RNase, ainsi que

pour les gènes qui codent pour une séquence régulatrice du génome viral.

L'utilisation des gènes codant pour un anticorps monoclonal permettant d'inactiver un agent pathogène donne offre des perspectives particulièrement séduisantes.

Si l'ensemble de ces techniques n'a pas encore eu d'impact significatif chez les animaux (à l'inverse des plantes), rien n'interdit de penser que ce sera le cas. Ceci est d'autant plus vrai que ces gènes ne devraient pas en règle générale, perturber la physiologie des animaux transgéniques qui les expriment.

### La modification des performances zootechniques des animaux

La transgénèse paraît être la technique de choix pour obtenir des animaux ayant acquis des caractères génétiques nouveaux, ce que la sélection génétique, reposant sur l'identification des mutations naturelles ne peut toujours réaliser. La transgénèse destinée à améliorer les performances des animaux est certes actuellement limitée par le manque de gènes à transférer. Un autre facteur tient à la fonction même des gènes. Peu de fonctions biologiques ne dépendent que d'un seul gène à modifier en vue de conduire à une amélioration de l'animal. De même, la plupart des gènes qui codent pour des protéines régulatrices agissent sur plusieurs fonctions biologiques. Le contrôle d'une fonction biologique par un transgène peut donc s'avérer malaisé. Les expériences réalisées avec le gène de l'hormone de croissance (GH) sont à cet égard très révélatrices. Les animaux (en particulier les porcs) qui expriment un transgène GH sont certes plus maigres et utilisent mieux leur ration alimentaire, mais il est désormais bien établi que la surexpression du transgène GH altère très sensiblement la santé de ces animaux. Une meilleure connaissance des mécanismes de contrôle de l'expression des gènes et des fonctions biologiques s'impose donc pour qu'on puisse espérer tirer un bon profit de la transgénèse.

Des projets nombreux et variés sont en cours de réalisation dans ce domaine (*tableau 4*) [13] et il fait peu de doute que certains conduiront à de beaux succès.

## Tableau 3

**Différents types de gènes permettant une vaccination génétique par l'intermédiaire de la transgénèse, sans faire intervenir le système immunologique de l'animal**

Type de gène	Mécanisme d'action
Gène de résistance naturelle	Mécanisme cellulaire le plus souvent inconnu
Gène codant pour une protéine de capsid virale	Perturbation de la formation de la particule virale
Gène codant pour une protéine enveloppe virale	Compétition au niveau du récepteur membranaire du virus
Gène codant pour un anticorps monoclonal	Liaison de l'anticorps à l'agent pathogène dans la circulation sanguine
Gène codant pour une région régulatrice d'un génome viral	Surexpression de la région régulatrice qui sert de leurre stérile à une protéine virale essentielle comme une ARN polymérase nécessaire à la replication du génome viral
Gène codant pour une RNase associée à une protéine de capsid virale	Destruction de l'ARN viral à l'intérieur de la particule virale
Gène codant pour un ARN antisens	Inactivation sélective d'un ARN viral par la formation d'un ARN bicaténaire
Gène codant pour un ribozyme	Destruction sélective d'un ARN viral

Different types of genes allowing a genetic vaccination through transgenesis, not involving the immunological system of the animal

## Conclusion

Une analyse de l'avancement des recherches destinées à tirer un meilleur parti des animaux d'élevage *via* la transgénèse fait apparaître assez clairement que les véritables succès massifs sont à attendre pour le début du siècle prochain. Cette relative lenteur tient au fait que les techniques de transgénèse sont encore assez peu performantes pour les gros animaux, au fait que les gènes à transférer sont encore rares et à la lenteur de la diffusion des transgènes dans les troupeaux à partir des animaux fondateurs. Mais dans aucun de ces secteurs la recherche ne stagne, et la diffusion des

transgènes d'intérêt zootechnique dans les troupeaux devrait largement profiter du clonage des embryons par transfert de noyaux dans les ovocytes.

Le porc paraît être l'animal domestique qui devrait en premier bénéficier du transfert de gène. Un rapport récent n'hésite pas à prédire qu'en l'an 2000 le marché mondial du porc transgénétique dépassera le million de dollars. Il convient toutefois de prendre ces prévisions avec une certaine réserve. Un rapport tout aussi sérieux annonçait en effet il y a quelques années qu'on verrait dans le monde plus de 100 millions de bovins, 55 millions de porcs et 4,5 milliards de poulets transgénétiques en 1995. Nous sommes évidemment très loin du compte.

La transgénèse appliquée aux animaux domestiques mettra sans doute quelque temps à s'imposer. Les limitations techniques actuelles sont encore plus marquées qu'on ne pourrait l'imaginer après un examen superficiel. Il est en effet dangereux de ne partir que d'un petit nombre d'animaux transgénétiques fondateurs pour établir une nouvelle race d'animaux. Les estimations des généticiens amènent à la conclusion que plusieurs dizaines d'animaux transgénétiques fondateurs indépendants doivent être utilisés si l'on veut conserver une variabilité génétique suffisante pour l'ensemble des caractères de ces animaux.

L'apport d'un caractère génétique nouveau *via* la transgénèse pose également le problème de la protection de l'invention. Le système actuel des brevets est peu applicable à la transgénèse animale. Il est en effet inacceptable qu'un sélectionneur puisse breveter un animal transgénétique sans autre forme de procès, car ceci reviendrait à s'approprier l'ensemble des caractères génétiques des animaux qui ont été utilisés pour la transgénèse. Une réflexion au niveau européen et mondial devrait donner des réponses à cette situation nouvelle.

L'obtention et la diffusion des animaux transgénétiques peuvent poser des problèmes de biosécurité. Un examen des méthodes utilisées et une analyse des animaux obtenus s'imposent avant que la diffusion puisse être autorisée. Une norme AFNOR (en préparation) définit les conditions dans lesquelles les animaux doivent être maintenus pendant les expérimentations. En France, la Commission du génie génétique est chargée d'évaluer les risques potentiels liés à ces expérimentations et la Commission de génie biomoléculaire a pour fonction d'examiner les conditions dans lesquelles des animaux transgénétiques peuvent être diffusés dans la nature ou les élevages.

Une certaine résistance à la diffusion peut venir de certains consommateurs qui imaginent les animaux transgénétiques comme des monstres dangereux pour la consommation. Une pédagogie appropriée doit accompagner l'avènement de la transgénèse si l'on veut que les décisions des Commissions, qui s'appuient autant que faire se peut sur des arguments rationnels, ne soient pas suivies d'un refus des consommateurs mal informés ■

### Tableau 4

**Principaux gènes actuellement candidats à la transgénèse (destinée à améliorer les performances zootechniques des animaux domestiques)**

Gènes	Modification attendue
GH, GRF, IGF <sub>1</sub> Autres facteurs de croissance	- Croissance musculaire - Réduction des dépôts de graisse - Meilleure utilisation de la ration alimentaire
Gènes permettant de synthétiser la cystéine à partir de la sérine	Amélioration de la croissance de la laine
Gènes permettant la synthèse de thréonine et de lysine	Acquisition d'une indépendance nutritionnelle vis-à-vis des acides aminés essentiels chez les monogastriques
$\Delta_2$ désaturase	Changement de la composition des lipides corporels
Borooola	Amélioration de la prolificité
Protéine antigel	Résistance des saumons au gel
Protéines du lait	- Humanisation du lait de vache - Meilleur rendement en protéines du lait - Meilleure qualité des fromages

Main genes presently candidates for transgenesis (expected to improve the zootechnical characteristics of farm animals)

## Résumé

Les progrès des techniques de génie génétique et de la manipulation des embryons permettent d'introduire n'importe quel fragment d'ADN dans le génome des animaux, y compris des animaux domestiques. Ces techniques permettent depuis dix ans d'étudier comme jamais auparavant le fonctionnement des gènes et leur rôle dans l'expression des fonctions biologiques. De nombreuses applications ont d'emblée été envisagées. Certaines commencent à devenir une réalité. Des protéines d'intérêt pharmaceutique sont sécrétées en abondance dans le lait d'animaux de laboratoire et d'animaux domestiques et certaines seront bientôt commercialisées. Les animaux d'élevages vont également profiter de ces techniques en acquérant des résistances aux maladies et de meilleures performances zootechniques, que la sélection génétique classique est incapable d'apporter. Les animaux transgéniques de laboratoire et, dans certains cas, les animaux de plus grande taille commencent à devenir des modèles biologiques d'un intérêt inestimable pour l'étude des maladies humaines. Des études intenses, qui ne sont peut-être pas prêtes d'aboutir, visent à modifier certains animaux (porc, mouton) pour en faire les donneurs d'organes dont l'espèce humaine a le plus grand besoin. Tout laisse penser que la transgénèse animale aura un puissant impact sur l'élevage du XXI<sup>e</sup> siècle.

## Références

1. Klein TM, Arentzen R, Lewis PA, Fitz Patrick-Mc Elligot S. Transformation of microbes, plants and animals by particle bombardement. *Biotechnology* 1992 ; 10 : 286-91.
2. Tang DC, DeVit M, Johnston SA. Genetic immunization is a simple method for eliciting an immune response. *Nature* 1992 ; 356 : 152-4.
3. Brem G. A Survey of gene transfert in animal breeding. *Anim Res Dev* 1990 ; 31 : 98-111.
4. Houdebine LM. Les biotechnologies animales. *INRA Prod Anim* 1991 ; 4 : 81-8.
5. Houdebine LM, Chourrout D. Transgenesis in fish. *Experientia* 1991 ; 47 : 891-7.
6. Shuman RM. Production of transgenic birds. *Experientia* 1991 ; 47 : 897-905.
7. Robertson EJ. Using embryonic stem cells to introduce mutations into the mouse germ line. *Biol Reprod* 1991 ; 44 : 238-45.
8. Lavitrano M, French D, Zani M, Frati L, Spadafora C. The interaction between exogenous DNA and sperm cells. *Mol Reprod Dev* 1992 ; 31 : 161-9.
9. Brinster RL, Sandgren EP, Behringer RR, Palmiter RD. No simple solution for making transgenic mice. *Cell* 1989 ; 59 : 239-41.
10. Gagné MB, Pothier F, Sirard MA. Electroporation of bovine spermatozoa to carry foreign DNA in oocytes. *Mol Reprod Dev* 1991 ; 29 : 6-15.
11. Inoue K, Yamashita S, Hata II, et al. Electroporation as a new technique for producing transgenic fish. *Cell Diff Dev* 1990 ; 29 : 123-8.
12. Müller M, Brem G. Disease resistance in farm animal. *Experientia* 1991 ; 47 : 923-34.
13. Ward KA, Nancarrow CD. The genetic engineering of production traits in domestic animals. *Experientia* ; 47 : 913-22.
14. Wright G, Carver A, Cottom D, et al. High level expression of active human alpha-1-antitrypsin in the milk of transgenic sheep. *Biotechnology* 1991 ; 9 : 830-4.
15. Massoud M, Bischoff R, Dalemans W, et al. Expression of active recombinant human alpha-1-antitrypsin in transgenic rabbits. *J Biotechnology* 1991 ; 18 : 193-204.
16. Dodet B. Production de protéines recombinantes : quel système choisir ? *Biofutur* 1990 ; 91 : 20-9.
17. Stinnakre MG, Devinoy E, Thépot D, et al. Quantitative collection of milk and active recombinant proteins from the mammary glands of transgenic mice. *Animal Biotechnology* 1992 ; (sous presse).



Les chercheurs, les enseignants, les étudiants trouveront dans cet ouvrage le point actuel et les possibilités offertes par la maîtrise des cultures *in vitro* et des transferts de l'information génétique.

- Les biotechnologies du clonage des génotypes
- Les vitro-variations ou variations somaclonales
- L'haploïdisation
- L'hybridation somatique
- Les technologies des transformations moléculaires
- Les nouveaux paramètres pour la création dans le domaine végétal

Co-édition UREF/AUPELF - John Libbey Eurotext

162 pages - 15,5 x 24 cm  
ISBN 0 86196 221 4  
60 FF (Prix préférentiel : Afrique, Asie, Amérique du Sud, Haïti), 120 FF (Autres pays)

## BON DE COMMANDE

Veuillez m'adresser ( ) exemplaire(s) de .....

Veuillez trouver ci-joint mon règlement à l'ordre de John Libbey Eurotext

Nom ..... Prénom.....

Adresse.....

Ville..... Pays.....

À retourner à : John Libbey Eurotext  
6, rue Blanche - 92120 Montrouge  
Tél. : 47.35.85.52 - Fax : 46.57.10.09