

N° 1871
ASSEMBLÉE NATIONALE

CONSTITUTION DU 4 OCTOBRE 1958
ONZIÈME LÉGISLATURE

N° 20
SÉNAT

SESSION ORDINAIRE DE 1999-2000

Enregistré à la Présidence de l'Assemblée nationale
le 15 octobre 1999

Annexe au procès-verbal de la séance du
14 octobre 1999

**OFFICE PARLEMENTAIRE D'ÉVALUATION
DES CHOIX SCIENTIFIQUES ET
TECHNOLOGIQUES**

RAPPORT

sur

GÉNOMIQUE ET INFORMATIQUE : L'IMPACT SUR LES THÉRAPIES
ET SUR L'INDUSTRIE PHARMACEUTIQUE

par

M. Franck SÉRUSCLAT,
Sénateur.

Déposé sur le Bureau de l'Assemblée nationale
par M. Jean-Yves LE DÉAUT
Premier Vice-Président de l'Office.

Déposé sur le Bureau du Sénat
par M. Henri REVOL
Président de l'Office.

Recherche - Biologie - Génétique - Médicaments - Santé.

SOMMAIRE

INTRODUCTION	4
I. Structure du rapport	4
II. Propos liminaires : génomique intime	6
III. Propos introductifs	13
1. PREMIÈRE PARTIE : UNE RÉVOLUTION SCIENTIFIQUE	16
1.1. DES CONNAISSANCES ET DES TECHNIQUES ENTIÈREMENT NOUVELLES	16
1.1.1. LA GÉNOMIQUE :.....	16
1.1.1.1. Définition et procédés	16
1.1.1.2. L'état des connaissances.....	19
1.1.1.2.1. La soudaine accélération du séquençage du génome humain.....	19
1.1.1.2.2. La divergence des approches publiques et privées dans le séquençage du génome humain.....	21
1.1.1.2.2.1. Deux logiques de recherche différentes	21
1.1.1.2.2.2. Deux logiques d'accès aux connaissances	23
1.1.1.3. Les résultats déjà obtenus ou attendus et l'intérêt de ces résultats	24
1.1.1.3.1. Le génome humain.....	24
1.1.1.3.2. Le génome d'agents responsables de maladies.....	25
1.1.2. LA BIO-INFORMATIQUE	33
1.1.2.1. L'acquisition et l'analyse de l'information génétique	33
1.1.2.2. L'organisation et la conservation de l'information.....	34
1.1.3. LES BIOPUCES	36
1.1.3.1. Les technologies utilisées	36
1.1.3.2. Les possibilités d'utilisation.....	40
1.1.3.3. La production des biopuces.....	42
1.1.4. LA CHIMIE COMBINATOIRE ET LE CRIBLAGE À HAUT DÉBIT	44
1.1.4.1. Chimie combinatoire et constitution de chimiothèques	45
1.1.4.2. Le criblage à haut débit	50
1.2. DE MULTIPLES APPLICATIONS.....	52
1.2.1. L'UTILISATION POUR LA RECHERCHE PHARMACEUTIQUE DES CIBLES ISSUES DE LA GÉNOMIQUE.....	52
1.2.1.1. La connaissance du génome humain	52
1.2.1.2. La connaissance des génomes bactériens	53
1.2.2. LA THÉRAPIE GÉNIQUE	55
1.2.2.1. Origine et application de la thérapie génique	55
1.2.2.2. Les obstacles techniques.....	56
1.2.2.3. La réorientation des applications de la thérapie génique	62
1.2.2.4. Le point sur la thérapie génique.....	70
1.2.3. LES NOUVEAUX VACCINS.....	75
1.2.3.1. L'immunothérapie génique	75
1.2.3.2. La vaccination génique	76
1.2.3.3. L'utilisation de la connaissance du génome pour la découverte de nouveaux vaccins « traditionnels »	80
1.2.4. LA PHARMACOGÉNOMIQUE	85
1.2.4.1. Définition	85
1.2.4.2. Les applications de la pharmacogénomique.....	86
1.2.4.3. Les différentes approches de la pharmacogénomique.....	91
1.2.4.4. Espoirs et limites de la pharmacogénomique.....	93
1.2.5. LE DIAGNOSTIC MOLÉCULAIRE	94
1.2.5.1. Le diagnostic des maladies infectieuses	94
1.2.5.2. La connaissance des prédispositions génétiques	96
1.2.6. LES PROTÉINES THÉRAPEUTIQUES.....	97
1.2.6.1. Des protéines animales aux protéines recombinantes.....	97
1.2.6.2. Les protéines issues d'animaux transgéniques	99
2. DEUXIÈME PARTIE : DE NOUVEAUX CHOIX À FAIRE	100

2.1. POUR LA RECHERCHE	100
2.1.1. <i>LES STRUCTURES DE LA RECHERCHE</i>	100
2.1.1.1. Les nouvelles stratégies de recherche dans l'industrie pharmaceutique et leurs conséquences	100
2.1.1.1.1. L'externalisation croissante de la recherche	100
2.1.1.1.2. Les nouveaux partenariats	104
2.1.1.2. La nécessaire valorisation de la recherche publique	109
2.1.1.2.1. Le « transfert des chercheurs »	109
2.1.1.2.2. ... ou le « transfert de la recherche »	111
2.1.2. <i>LES ORIENTATIONS DE LA RECHERCHE</i>	114
2.1.2.1. Affiner la connaissance de l'ADN et de ses « produits », les protéines	116
2.1.2.1.1. Les « non-gènes » du génome	116
2.1.2.1.2. La protéomique	118
2.1.2.2. Les biopuces en France	121
2.2. POUR L'INDUSTRIE	124
2.2.1. <i>LE TISSU INDUSTRIEL</i>	124
2.2.1.1. L'aide aux start-up : capital-risque et bio-incubateurs	124
2.2.1.2. Les biopôles	129
2.2.2. <i>LES BREVETS</i>	135
2.2.2.1. Aspect juridique : le champ de la brevetabilité	135
2.2.2.2. Aspect économique : l'impact des brevets	138
2.3. POUR LA SOCIÉTÉ	141
2.3.1. <i>LA FORMATION PROFESSIONNELLE</i>	141
2.3.1.1. Les biologistes	141
2.3.1.2. Les médecins et les pharmaciens	143
2.3.1.3. Les bio-informaticiens	144
2.3.1.4. La formation des citoyens	147
2.3.2. <i>LA MÉDECINE PRÉDICTIVE</i>	149
2.3.2.1. Précautions pour l'analyse des résultats	149
2.3.2.2. Évaluation de l'utilité thérapeutique des tests	150
2.3.2.3. Préserver le droit de ne pas savoir et celui de ne pas faire connaître	152
CONCLUSION ET RECOMMANDATIONS	158
<i>EXAMEN DU RAPPORT PAR L'OFFICE</i>	164
« RÉFLEXIONS POUR L'AVENIR : CONSULTATION DANS UN CABINET MÉDICAL EN 2010 »	165
GLOSSAIRE	174
ANNEXES :	177
Annexe n° I : Le problème du financement des nouvelles thérapies	178
Annexe n° II : La vaccination par « ADN nu »	181
Annexe n° III : Réflexions de lecture du rapporteur : Les dérapages possibles au cours de l'existence	192
Annexe n° IV : Entretiens du rapporteur et participation à des colloques	196
Annexe n° V : Lettre de saisine de l'Office	202

INTRODUCTION

I. STRUCTURE DU RAPPORT

À l'évidence, nous assistons à un bouleversement des moyens utilisés pour guérir les hommes malades et non seulement les soigner.

Chaque jour, la presse, spécialisée ou non, fait état des recherches et de leurs résultats prévisibles ; la presse spécialisée en confirme la plupart tout en restant prudente dans ses audaces.

L'Office parlementaire d'évaluation des choix scientifiques et technologiques a adopté un rapport destiné à faire le point sur les enjeux, déjà perceptibles ou prévisibles, de cette rencontre entre l'informatique et la génomique.

Ce rapport, réalisé à partir d'informations recueillies en France comme aux États-Unis, nourri de la lecture de la presse spécialisée et de la consultation d'une documentation scientifique comprend deux parties :

La première partie décrit la véritable **RÉVOLUTION SCIENTIFIQUE** qui bouleverse depuis quelques années le domaine de la santé.

De façon aussi précise et détaillée que le permettent les informations recueillies, sont présentées en deux chapitres :

- LES CONNAISSANCES ET LES TECHNIQUES ENTIÈREMENT NOUVELLES récemment maîtrisées :

- La génomique : Étude des génomes des organismes, en particulier de l'ensemble des gènes et de leur disposition sur les chromosomes ;
- La bio-informatique : Combinaison de l'informatique et de la biologie, qui permet de déchiffrer les génomes et d'analyser l'information génétique ;
- Les biopuces : Supports issus de la micro-électronique classique, mais sur lesquels sont fixés des fragments d'ADN permettant d'analyser d'autres brins d'ADN ;
- La chimie combinatoire et le criblage à haut débit : Synthèse par combinaison chimique de très nombreuses molécules constituant des candidats-médicaments et tri rapide de ces molécules en fonction de leur action sur les cibles que constituent, par exemple, les protéines.

- LEURS MULTIPLES APPLICATIONS :

- L'utilisation pour la recherche pharmaceutique de cibles issues de la génomique : Chaque gène code pour une protéine ; la déficience ou l'excès de protéine est à l'origine de nombreuses pathologies. L'utilisation des protéines identifiées grâce à la génomique, permet de mieux orienter la recherche pharmaceutique ;
- La thérapie génique : Réparation d'un gène ou apport *in situ* d'un gène fonctionnel ;
- Les nouveaux vaccins : Nouvelles techniques d'immunothérapie ; vaccins à base d'ADN ; vaccins traditionnels découverts grâce à la connaissance du génome des bactéries ;
- La pharmacogénomique : Adaptation des traitements aux malades en fonction de leur profil génétique ;
- Le diagnostic moléculaire : Tests ciblant le patrimoine génétique et permettant de détecter les maladies infectieuses ou génétiques ;
- Les protéines thérapeutiques : L'utilisation des techniques du génie génétique pour la production de protéines par des bactéries ou des levures et, plus récemment par des animaux génétiquement modifiés.

La deuxième partie présente les **NOUVEAUX CHOIX À FAIRE EN FRANCE**, pour bénéficier de cette révolution scientifique, dans trois domaines :

- LA RECHERCHE, ses STRUCTURES et ses ORIENTATIONS fondamentales, notamment vers la **protéomique** (étude des protéines) ;
- L'INDUSTRIE, les ACTIONS EN FAVEUR DES JEUNES ENTREPRISES DE BIOTECHNOLOGIE, les BIOPÔLES ainsi que le problème des BREVETS ;
- LA SOCIÉTÉ, avec les deux aspects spécifiques de la FORMATION PROFESSIONNELLE et de la MÉDECINE PRÉDICTIONNELLE (étude génétique des prédispositions à certaines pathologies).

La **conclusion** propose une série de recommandations pour profiter de la révolution génomique et en maîtriser les conséquences.

II. PROPOS LIMINAIRES : GÉNOMIQUE INTIME

Je tiens avant tout à remercier M. Jacques DANGOUMAU, professeur des universités, praticien hospitalier, pharmacologue et M. Yves CHAMPEY, président de la Fondation Rhône-Poulenc Rorer, qui ont bien voulu constituer, pour m'assister dans l'élaboration de ce rapport, un comité de pilotage dont les conseils m'ont été infiniment précieux.

Dès le début de la préparation de ce rapport, et la rédaction de l'étude de faisabilité préalable, j'ai découvert combien avaient progressé les connaissances sur la nature intime de l'être humain. Les scientifiques sont arrivés à identifier, ou vont y parvenir, la composition du génome humain et, bientôt, ils n'hésiteront pas à le prendre comme matrice de médicaments spécifiques, en feront une méthode thérapeutique ordinaire adaptée à une maladie pour un malade personnalisé. Décrypter ces données nouvelles est indispensable, l'objectif du rapport étant de mettre à la portée de chacun des informations claires sur des sujets complexes.

« L'élucidation de la structure de la double hélice de l'ADN, la découverte de l'ARN messager, le déchiffrement du code génétique, le décryptage de la mécanique de la synthèse protéique, la compréhension des grands principes de la régulation des gènes sont des morceaux d'anthologie, désormais classiques [...]. L'étude approfondie des systèmes n'a cessé de progresser, appuyée par une impressionnante avancée des méthodes et des techniques. La plus spectaculaire a été sans doute l'avènement du génie génétique qui a offert aux biologistes une méthode quasi-générale pour isoler et purifier des gènes spécifiques, donc de les analyser et les manipuler à des fins cognitives ou productrices [...]. Dotée de concepts et d'outils performants, la recherche peut, au niveau moléculaire, aborder la confondante diversité du vivant [...] (en découvrant en même temps) l'homogénéité moléculaire du vivant qui contraste avec la grande diversité des formes [...]. À peine repère-t-on, sur quelques organismes très différents un trait marquant, que l'on peut formuler une loi générale s'appliquant à l'ensemble ou à des sous-ensembles du monde vivant [...]. Un biologiste moléculaire, aujourd'hui, raisonne et se documente de façon quasiment indifférente sur des données obtenues chez des bactéries, des levures, la mouche du vinaigre, l'oursin, la torpille, le crapaud, le poulet, le lapin, la souris ou l'homme [...]. Jamais peut-

*être l'impact de découvertes fondamentales dans ses applications n'a été si rapide [...]*¹.

L'origine de la vie, son évolution font étonnement, certes ; les causes n'en sont, cependant, plus ignorées et des connaissances scientifiques et techniques peuvent prendre place dans des débats philosophiques ou théologiques.

La vie des êtres humains, des végétaux comme des animaux, est portée par les mêmes substances chimiques, substances que l'homme sait synthétiser dans ses cornues : l'ADN, deux bases puriques, deux pyrimidiques, 24 acides aminés, c'est tout. Avec des milliards de combinaisons, l'homme ne reproduit que des être humains, tous différents entre eux, noirs, jaunes, métis, blancs, avec des yeux bridés ou non, hommes grands ou petits, plus ou moins bancals, beaux ou vilains, mais toujours, et seulement, des êtres à visages, corps et comportements humains. Végétaux et animaux gènèrent des millions de différences, de l'arbre immense au pissenlit à la fleur d'une délicatesse surprenante, dans le règne végétal, de l'éléphant au virus du SIDA dans le règne animal.

Les plus fins détails de l'organisation du génome humain se sont précisés. Les milliards de nos cellules sont, avec des fonctions précises, réparties dans tous nos organes, peau et muscles, cœur, foie, cerveau, rein, pancréas, etc. Ces cellules, sauf celles qui nagent dans le sang, ont des ponts entre elles pour être maintenues en place ; dans le noyau de chacune d'entre elles est pelotonné l'ADN avec ses bases puriques et pyrimidiques organisées selon la séquence née de la fusion des patrimoines parentaux. Chacune de ces cellules pourrait intervenir dans la naissance et la vie de n'importe quel organe, mais chacune d'elle est limitée au rôle nécessaire pour l'organe où elle se trouve logée ; celles qui sont dans le tissu musculaire ne fourniront pas du tissu cérébral, cardiaque, ou rénal, etc. Le détail de l'intervention de l'ARN messenger, la présence de verrous répressifs ne laissant s'exprimer que la séquence nécessaire d'ADN ne sont pas encore parfaitement connus.

L'objectif des scientifiques est d'acquérir la connaissance intime de ces mécanismes et leurs maîtrises ; un jour, ils construiront l'homme à leur manière pour créer « leur meilleur des mondes ». Fol espoir ! Terrible inquiétude !

Dégager les conséquences du recours au génome comme matière pour des « médicaments génétiques » conduit à se demander si l'homme ne serait qu'une étonnante « machine » faite de moteurs chimiques pour penser, créer, imaginer, aimer ou détester, caresser, torturer, tuer ou protéger, enchanter ou effrayer... La vie ne serait-elle plus ce « miracle » impressionnant tant Menuhin

¹ P. KOURILSKY, Préface « Des gènes aux protéines ». Bibliothèque Pour la Science, diffusion Belin.

(« Je suis né avec un héritage qui date de milliers d'années. L'enfant est l'incarnation de vies antérieures ; on croît qu'il est nouveau-né, mais il est le miracle d'une vie qui n'a pas été interrompue depuis l'origine de l'homme »). Vie de l'homme, vie des animaux, vie des plantes, toutes ont les mêmes éléments pour accomplir les actes les plus essentiels comme les plus subtils de la vie à la mort. Chaque seconde, fraction de seconde, fraction de fraction de seconde, nos comportements les plus secrets, les plus ordinaires comme les plus compliqués en seraient-ils dépendants ? La chimie supplanterait-elle toutes les autres hypothèses ? Rendrait-elle caduc ce qui était légende ou mystère ?

Les premiers éléments réunis pour l'élaboration de ce rapport ont mis en lumière une fulgurante évolution démultipliée par le développement parallèle des moyens informatiques mis à la disposition de la recherche, et celui des connaissances de la structure intime de l'être humain.

Génomique, chimie combinatoire, informatique, thérapie génique, sont des mots qui aujourd'hui enthousiasment les uns, inquiètent les autres, font naître des espérances ou des inquiétudes ; jusqu'où l'homme va-t-il oser aller, sans risques majeurs ? Quelles chances, quels risques pour l'espèce humaine au moment où il disposera des clefs de son évolution dès avant la naissance, jusqu'à la fin de la vie ?

Pour en bien comprendre les rôles respectifs des composantes de ce génome humain, il m'a été utile d'en faire un recensement explicatif.

Chaque cellule humaine a un noyau et un cytoplasme, sauf les globules rouges.

Chaque cellule contient dans son noyau les 46 chromosomes porteurs des facteurs déterminant de l'hérédité

Le chromosome : Au début du XIXe siècle, l'examen microscopique de cellules animales et végétales traitées par certains colorants révéla la présence dans leurs noyaux de corps colorés qu'on appela chromosomes, du grec *khrôma*, couleur, et *soma*, corps.

Chaque chromosome est porteur de nombreux gènes originaux mais il n'a pas de fonction propre pour autant. Il n'y a pas un gène qui soit porteur d'une finalité type par exemple « yeux bleus ». C'est la conjugaison des gènes de plusieurs chromosomes qui permettra que ce caractère héréditaire apparaisse.

Ceci est vrai pour tous les chromosomes, sauf les chromosomes sexuels.

Chaque chromosome n'a pas de spécificité par lui-même, sauf sa forme.

Le composant principal des chromosomes est l'ADN (acide désoxyribonucléique) qui possède une structure en double hélice lui permettant

de stocker et de transmettre une information génétique « À n'en pas douter, l'élucidation de la structure de l'ADN marque une étape majeure dans la compréhension du vivant et ouvre pour la recherche une nouvelle ère : celle de la biologie moléculaire du gène. Ce dernier, support de l'hérédité, vient en effet de trouver sa nature... »¹. Cette découverte, le 25 avril 1953, par CRICK et WATSON fut saluée par les plus brillants biologistes du monde et par Salvador DALI : « Aujourd'hui, les dernières découvertes de la science nous prouvent que les lois de Dieu sont celles de l'hérédité contenue dans l'acide désoxyribonucléique, ADN, et que l'acide ribonucléique, ARN, n'est que le messenger chargé de transmettre le code génétique, qui est le legi intimus des deux acides en question formant ici l'échelle de Jacob de CRICK et WATSON »².

Cette première découverte n'était, pourtant, pas suffisante pour connaître et comprendre le mécanisme intime de la transmission de l'information génétique.

Il a fallu que SANGER, prix Nobel en 1958, interprète le rôle des protéines à partir des premiers travaux de BANTING et BEST en 1922 sur l'insuline, première protéine isolée à l'état pur, composée de 177 acides aminés ; il démontra que ces acides aminés n'étaient pas dans un ordre aléatoire mais en séquence bien déterminée et, si une seule erreur intervient dans cet agencement, l'insuline perd ses propriétés. Il en conclut que ces protéines étaient de grosses molécules chimiquement définies.

Ce sont, enfin, les travaux de J. MONOD, F. JACOB et A. WOLF, prix Nobel en 1965, qui ont permis de percer les mystères du mécanisme de la régulation génétique au niveau de la cellule : on leur doit la découverte de l'ARN messenger ainsi que celle des étapes de la participation des acides aminés à la constitution des protéines du vivant, qu'il s'agisse des être humains, des animaux, des bactéries, des microbes mais aussi des plantes : pour tous ADN, ARN messenger, protéines et acides aminés, en des quantités totalement différentes, sont les supports de la transmission de tous leurs caractères, jusque dans leurs moindres détails. Cet ADN est localisé dans le noyau des cellules et sert de matrice pour la synthèse des différents types d'acide ribonucléique, ou ARN, par le processus de transcription. Il est le support de la transmission héréditaire.

La molécule d'ADN est une molécule codée que l'on peut considérer comme un « mot » formé de plusieurs millions de lettres écrites avec un alphabet réduit de 4 lettres : A, C, G et T (adénine, cytosine, guanine et thymine). L'ordre dans lequel sont placés ces 4 constituants s'appelle une information codée.

¹ Catherine VINCENT. Le Monde. Numéro spécial : Le Siècle.

² Oui 2. Denoël. 1971.

Le génome est composé de tous les chromosomes d'un organisme vivant, humain, animal vertébré ou non, plante..., donc de tous les gènes qu'il contient, sans qu'il y ait de mélange.

La double hélice est constituée par le génome, donc par tous les chromosomes, donc par tous les gènes. Mais cette double hélice n'a pas pour autant un contenu physique unique ; elle est faite des 46 chromosomes restant individualisés : elle est faite de 46 fragments.

Le gène est la portion d'un chromosome qui commande l'expression d'un caractère héréditaire précis : c'est un tout petit fragment du chromosome Y qui détermine le sexe ; si ce petit fragment est présent dans la cellule œuf, il entraîne la « fabrication » d'un garçon ; s'il est absent, d'une fille... La précision de leur localisation, permet d'établir, peu à peu, les cartes génétiques.

Chaque gène est constitué par une séquence de 4 bases allant toujours deux à deux : adénine et thymine, bases puriques, et guanine et cytosine, bases pyrimidiques. On évalue à environ 80 000 à 100 000 le nombre de gènes.

Dans le cytoplasme sont produits et assemblés une **vingtaine d'acides aminés** déterminant la constitution des caractéristiques génétiques ; On distingue des :

- acides aminés essentiels apportés par l'alimentation et que l'individu ne peut synthétiser
- acides aminés ordinaires synthétisés par les cellules.

Ces acides aminés seront ordonnés (= mis en ordre) par l'ARN messager qui, sous la dictée de l'ADN, aura copié cet ordonnancement. Pour cela, l'ARN messager, avec sa copie, quitte le noyau, met en ordre les acides aminés contenus dans le cytoplasme selon les directives recopiées sur le fragment d'ADN dont il est le correspondant.

Ainsi se construisent les protéines utiles :

- les unes aux formes de la cellule (ce sont des briques de construction) ;
- les autres aux fonctions assurées par les cellules.

L'altération, l'absence d'un des éléments ou d'un ensemble d'entre eux peuvent être à l'origine de maladies. La découverte de la cause génétique d'une maladie, sauf dans le cas où celle-ci serait ou paraîtrait être due à un seul gène, est particulièrement difficile, tant le nombre de facteurs est élevé.

40 mille milliards de cellules (peau, muscles, nerfs...) contiennent, chacune dans leur noyau, 23 paires de chromosomes. Ces 23 paires sont enfermées dans un zygote totipotent et omnipotent, cellule initiale née du

mariage entre le spermatozoïde du père et l'ovule de la mère ; celui-ci contient toutes les instructions nécessaires à notre création puis survie.

Chaque chromosome est un long filament d'acide désoxyribonucléique (ADN). Cette molécule est un serpent à deux bandes formées d'une longue suite d'unités fondamentales, les minuscules nucléotides, eux-mêmes constitués de trois molécules : un phosphate, un sucre et une base. Phosphates et sucres forment le serpent qui s'enroule pour former une double hélice. Les bases, associées deux à deux, forment des petits liens perpendiculaires aux deux bandes comme les barreaux d'une échelle torsadée.

La totalité de notre matériel génétique est constituée par quelques trois milliards de ces barreaux sur ces minces filaments d'un millième de millimètre d'épaisseur.

Les quatre bases (adénine, cytosine, guanine, thymine, désignés par leurs initiales A, C, G, T), sont disposées, par paires, en vis-à-vis, sur chacune des deux bandes, selon une règle immuable : l'adénine est toujours associée à la thymine (A-T) et la cytosine à la guanine (C-G). À chaque gène correspond une information génétique définie par le nombre et l'ordre de succession des paires de bases au sein du gène ; le nombre de paires de bases sur ces gènes peut aller de 800 à plus d'un million par gène.

Les lettres A, C, G, T, peuvent être considérés comme quatre notes pour écrire la partition de la vie. La lecture de cette partition se traduit par la fabrication de protéines (ou d'enzyme, protéine ayant une fonction d'un type précis, catalytique) toutes constituées d'une chaîne d'acides aminés qui, au départ, naissent dans la cellule ; ils sont alignés dans un ordre bien déterminé et caractéristique de la protéine en question. Chaque assemblage de bases pures correspond à un acide aminé particulier : le codon CGA code pour l'acide aminé alanine, le triplet CCA pour la proline...

Dans la cellule, ces opérations sont dirigées par un organite appelé ribosome : il déchiffre un assemblage de bases pures et ordonne à l'ARN messager d'aller chercher l'acide aminé correspondant ; il lit un assemblage suivant, fait chercher l'acide aminé pour le faire accrocher au précédent, jusqu'à lire le dernier de la phrase ; ce gène est limité à ses deux extrémités par deux triplets caractéristiques, au début ATG qui code pour l'acide aminé méthionine ; à la fin, le triplet « dit non sens », TAA, ne correspond à aucun acide aminé : il ferme le gène.

La molécule d'ADN mesure 1,80 m de long pour 2 millièmes de millimètre d'épaisseur ; elle se pelotonne dans un espace de quelques micromètres.

Pour une compréhension plus facile de la fonction de chacun des composants, génome, chromosome, gène, base purique, acide aminé, protéine, le recours à des images plus familières peut être utile.

Comparaison avec une bibliothèque et des livres :

Le génome, enfermé dans le noyau, ressemble à une bibliothèque avec 2 fois 23 rangées de livres édités, les uns par la mère, les autres par le père ; la confrontation de ces deux éditions d'un même texte (la vie humaine) est à l'origine de la diversité humaine. Chaque édition a des petites différences, des petites erreurs dont le mélange, au fil des générations et des mariages, aboutit à créer nos particularités. Seul l'ADN mitochondrial échappe à cette règle. Chaque rangée correspond à un chromosome constitué d'ADN et porteur de caractères héréditaires spécifiques à ce chromosome; ces livres ne peuvent pas quitter cette bibliothèque sans le secours de l'ARN messager ; celui-ci prend une copie d'une partie de livre et la transfère dans le cytoplasme ; les acides aminés, nageant dans ce cytoplasme sont comparables à des briques ; ils sont assemblés selon un plan porté par l'ARN messager ; celui-ci transfère des plans ou fragments de plans exprimés en combinaison des 4 bases puriques entre elles.

On peut comparer cette combinaison à un code comme le sont le morse ou un langage ; ce code sert à ordonnancer les acides aminés considérés comme des briques capables de construire des protéines adaptées aux multiples fonctions nécessaires à la vie.

III. PROPOS INTRODUCTIFS

Pendant des siècles et des siècles, faisant référence à Hippocrate et Esculape, médecins et apothicaires ont fait usage de plantes et de produits d'origine animale pour tenter d'adoucir les symptômes de maladies et la souffrance des malades. En ces débuts, la thériaque était une mixture complexe ayant vocation de médicament à effets généralistes et, surtout, antidote des poisons les plus divers ; peu à peu, des onguents, des pommades, des sirops, des extraits et autres formes galéniques ont pris place dans les prescriptions médicales ; puis les Diafoirus, tant moqués et décriés par Molière, ont usé et abusé de la saignée et du lavement.

La notion de « principes actifs » et leur extraction datent du début du XIXe siècle. Nombreux d'entre eux ont été isolés des végétaux, tels les alcaloïdes (morphine en 1805, strychnine et quinine en 1818 et 1920, puis cocaïne, codéine...) et les hétérosides (digitaline cristallisée). En 1889, année de l'exposition universelle à Paris, la recherche industrielle a fait ses premiers pas et a abouti à la découverte des antiseptiques, des digitaliques et des antirhumatismaux.

En 1907, le médecin allemand, P. EHRLICH, en découvrant les arsenicaux de synthèse efficaces contre la syphilis et la maladie du sommeil, a donné naissance à la **chimiothérapie**. Celle-ci a pris son essor rapidement, permettant la découverte d'antiparasitaires, de barbituriques, d'antipaludéens et de sulfamides.

Pendant la seconde guerre mondiale, l'ère des antibiotiques a commencé avec la préparation à grande échelle de la pénicilline, puis la mise au point de la streptomycine et des tétracyclines.

Sont ensuite apparus les psychotropes (phénothiazine, benzodiazépine), les antituberculeux (isoniazide) les corticoïdes (prednisone) et, vers les années soixante-dix, les médicaments cardio-vasculaires modernes (bêtabloquants).

Tous ces médicaments ont permis d'élargir considérablement la palette des possibilités thérapeutiques, sans toutefois répondre complètement aux exigences déjà exprimées par Pierre LAROUSSE dans son Grand Dictionnaire Universel du XIXe siècle :

« La vraie classification des médicaments reposera sur la connaissance de leurs effets précis et bien déterminés. Elle doit être établie, non d'après les symptômes de guérison qu'il font apparaître dans les diverses maladies, mais sur la nature des modifications qu'ils déterminent dans tel ou tel tissu malade.

Chaque tissu malade a son médicament, comme chaque tissu sain a son poison ».

Nous assistons actuellement à la naissance de ces médicaments : certains seront administrés comme leurs prédécesseurs mais atteindront des cibles très précises, d'autres seront de nature très différente, par exemple dans le domaine de la thérapie génique.

Cette rupture a pour origine la rencontre entre l'informatique et la génomique. Elle va bouleverser les modes de production et d'administration des substances thérapeutiques, avoir des répercussions considérables .

Voilà que depuis quelques 20 ans, l'homme découvre sa composition intime, son génome.

Il devient maintenant capable d'avoir la connaissance des rôles et des effets de l'ADN, des gènes des protéines, des allèles comme des microsatellites, de préciser quelle est la responsabilité de chacun de ses composants dans la quasi-totalité des maladies qui ont, donc, une cause cernable : une faiblesse ou une absence génétique ; voilà aussi qu'il peut les remettre en état de bon fonctionnement.

La connaissance des gènes provoque un bouleversement des connaissances et des comportements en médecine courante, dans l'industrie pharmaceutique, comme dans toutes les activités qui gravitent autour de la vie et de la maladie des hommes.

Il apprend même la « dualité » des gènes, celui de la prédisposition à la longévité étant également, par exemple, celui de la prédisposition à l'infarctus du myocarde précoce...

Il commence à connaître la composition des protéines codées par les gènes, à déterminer les conséquences pathologiques de l'excès ou du déficit de production protéinique ; il peut essayer d'enrayer les maladies en agissant sur leur cause c'est-à-dire en régulant le niveau d'expression des protéines.

Cette véritable **Révolution scientifique** prélude à **de Nouveaux choix à faire.**

**POUR LES TERMES TECHNIQUES,
UN GLOSSAIRE EST CONSULTABLE EN FIN DE RAPPORT**

1. PREMIÈRE PARTIE : UNE RÉVOLUTION SCIENTIFIQUE

1.1. DES CONNAISSANCES ET DES TECHNIQUES ENTIÈREMENT NOUVELLES

Elles sont apparues dans les domaines de la génomique, la bio-informatique, les biopuces et la chimie combinatoire associée au criblage à haut débit.

1.1.1. LA GÉNOMIQUE :

1.1.1.1. Définition et procédés

La génomique :

C'est l'étude exhaustive des génomes et en particulier de l'ensemble des gènes, de leur disposition sur les chromosomes, de leur séquence, de leur fonction et de leur rôle.

Le génome des organismes vivants est l'ensemble de leur matériel génétique. Il assure le fonctionnement des cellules et la transmission des caractères héréditaires au cours des générations. Il est constitué de molécules d'acides nucléiques (ADN), enchaînements d'unités élémentaires, les nucléotides. Les nucléotides sont constitués d'un sucre, d'un phosphate, et d'un élément variable, la base, qui peut être l'adénine, la guanine, la cytosine ou la thymine. Les gènes, c'est-à-dire les parties d'ADN porteuses d'une information génétique, ne constituent qu'une partie du génome.

Les génomes des organismes vivants ont des tailles considérables allant d'une centaine de millions à des milliards de nucléotides. Le génome humain, par exemple, est composé d'environ 3 milliards de bases. L'étude d'un génome passe donc par des opérations de cartographie puis de séquençage ainsi que par l'interprétation des séquences.

La cartographie physique :

C'est le positionnement de repères sur le génome.

On commence par couper l'ADN en grands fragments. Les grands fragments clonés de cette collection sont ensuite ordonnés (cartographiés) les uns par rapport aux autres, au moyen de points de repère (courtes séquences

d'ADN) qui servent de balises identifiant les grands fragments. Lorsque plusieurs fragments ont une balise en commun, on en conclut qu'ils ont une partie d'ADN en commun. On dit que les fragments sont partiellement recouvrants ou chevauchants.

En analysant l'ensemble des fragments d'ADN en fonction de leur contenu en balises, on peut reconstituer l'enchaînement des balises et des fragments d'ADN, tels qu'ils existent dans la molécule d'ADN de départ.

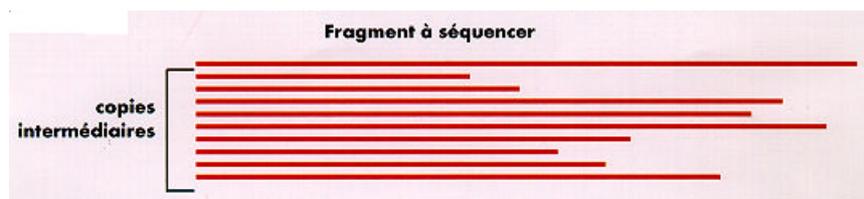
La reconstitution de la molécule d'ADN de départ sous la forme d'un ensemble de fragments chevauchants constitue la carte physique. C'est à partir de cette carte que sera choisi l'ensemble minimal de fragments assurant la couverture complète du génome à séquencer.

Le séquençage :

Pour connaître les « instructions » que renferme un fragment d'ADN, on lit la succession des bases puriques et pyrimidiques (A, T, G, C)¹ de l'enchaînement. Cette lecture est appelée séquençage.

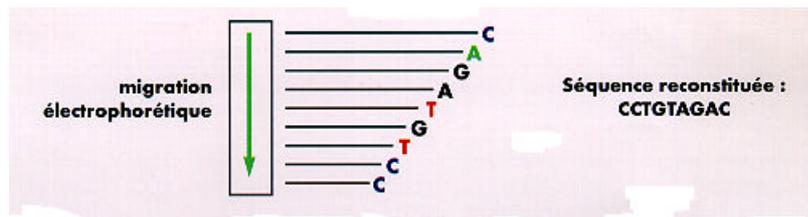
Un fragment d'ADN à séquencer est constitué de l'enchaînement de centaines d'exemplaires de nucléotides dans un ordre défini. Séquencer une telle molécule, c'est déterminer cet ordre.

Le principe utilisé consiste à réaliser, à partir d'un point fixe, des copies partielles de la molécule, interrompues au hasard. On synthétise toutes les copies intermédiaires possibles à partir du point fixe.



Puis on les sépare selon leur taille par une migration électrophorétique dans un gel poreux. Ces gels permettent de séparer deux intermédiaires consécutifs qui ont une différence de taille d'un seul nucléotide. Si l'on peut identifier le nucléotide du point d'interruption sur chacune de ces copies partielles, de la plus petite à la plus grande, il devient possible de reconstituer la succession des nucléotides tout au long de la copie.

¹ Adénine, Thymine, Guanine, Cytosine.



Dans la pratique, pour identifier les nucléotides terminaux, l'ADN à séquencer est recopié à l'aide d'un composé chimique qui provoquera l'interruption au hasard, mais systématiquement à la suite d'un seul des 4 nucléotides A, T, G ou C. On fera donc, en parallèle, 4 séries de copies. Dans chaque série, toutes les copies seront interrompues derrière un seul type de nucléotide ; par exemple, toutes les copies intermédiaires d'une série seront terminées par un A. En outre, le composé provoquant l'interruption est fluorescent pour pouvoir être détecté automatiquement à l'aide d'un système optique qui balaye le bas du gel d'électrophorèse dans les séquenceurs automatiques. Le signal obtenu est interprété par un programme informatique qui reconstituera la séquence originale du fragment d'ADN analysé¹.

La rapidité du séquençage :

Les centres publics ou privés de séquençage utilisent des outils de plus en plus perfectionnés, des séquenceurs à haut débit. Les deux séquenceurs les plus rapides sont actuellement :

- **MegaBace 1000**, de la société américaine Molecular Dynamics-Amersham Pharmacia-Biotech qui permet de séquencer 96 échantillons par réaction et 1 100 par 24 heures (les premiers appareils ont été installés en Europe en août 1997).

- **Abi Prism 3700**, de la société américaine Perkin Elmer Applied Biosystems, qui permet de séquencer 96 ou 384 échantillons par réaction, et 760 à 1240 par 24 heures (les premiers appareils ont été installés en Europe en janvier 1999).

Il peut être également intéressant, pour des raisons de rentabilité et de flexibilité de coupler plusieurs séquenceurs. La firme canadienne Visible Genetics a mis au point le Virtual DNA Sequencer. Ce système organise une connexion en réseau de plusieurs séquenceurs automatisés rapides. La centralisation dans l'ordinateur des données d'analyse issues de chacun de ces appareils permet de faire fonctionner l'ensemble comme un seul séquenceur très rapide.

¹ *Le Séquençage. Document fourni par le Centre national de séquençage.*

L'interprétation des séquences :

La séquence d'un fragment d'ADN contient une série d'informations qu'il faut identifier et interpréter. Les éléments de séquences les mieux connus correspondent aux gènes, délimités par des signaux de début et de fin. Ces gènes ne s'expriment pas tous en permanence dans une cellule. Leur expression est régulée par des éléments de contrôle, situés dans leur voisinage, qui augmentent ou diminuent leur niveau d'expression en fonction du besoin. Grâce à des programmes informatiques, l'interprétation des séquences permet le repérage des gènes, des éléments de contrôle et de leurs relations.

La cartographie génétique :

Elle constitue une autre façon d'étudier les génomes. Compte tenu de la complexité des procédés déjà exposés (cartographie physique, séquençage, interprétation des séquences), il est évident que des approches différentes peuvent se révéler intéressantes pour la connaissance des génomes. On peut, sans disposer d'un séquençage complet ou de cartes physiques très précises, étudier un caractère physiologie ou pathologie particulier. On fait alors appel aux méthodes de cartographie génétique pour identifier les gènes qui contrôlent ces caractères. Ces méthodes consistent à détecter directement au niveau de l'ADN les polymorphismes, c'est-à-dire les variations génétiques différenciant un individu d'un autre.

1.1.1.2. L'état des connaissances

1.1.1.2.1. La soudaine accélération du séquençage du génome humain

Le projet international « Génome Humain » a été lancé dès 1990 avec, aux États-Unis, un budget de 18 milliards de francs sur quinze ans.

Ce programme se fondait notamment sur une carte physique, localisant géographiquement les gènes sur la molécule d'ADN : elle avait été dressée à 70 % par le Professeur Daniel COHEN, chercheur au Centre d'études du polymorphisme humain (CEPH) et au Généthon, le laboratoire de l'Association française contre les myopathies (AFM), puis achevée avec le concours des chercheurs de l'Institut de technologie du Massachusetts (MIT).

Il se fondait également sur une carte génétique, situant les gènes selon leur fonction, établie par le Professeur Jean WEISSENBACH, actuellement directeur général du Centre national français de séquençage.

Afin que les travaux soient menés le plus rationnellement possible, tous les responsables des centres nationaux d'étude du génome se réunirent aux

Bermudes en 1996 et procédèrent au « partage » du génome afin de répartir son séquençage, chaque équipe étant chargée d'un chromosome entier ou d'une région particulière du génome.

La France, à cette époque, se montra hésitante et ce n'est qu'en 1998 qu'elle se vit confier le séquençage des chromosomes 3 et 14 (elle a ensuite renoncé au séquençage du chromosome 3).

Jusqu'en 1998, dans le cadre du programme international public Génome Humain, une fraction de 10 % des gènes a été séquencée.

Or, depuis un an, ce programme fait l'objet d'une accélération fulgurante. Le 15 mars 1999, les Instituts nationaux de la santé américaine (NIH) ont annoncé que le projet international de décryptage du génome humain avait achevé avec succès sa phase d'essai et que le financement du séquençage de l'ADN à grande échelle était décidé. Les échéances annoncées sont proches : un an pour l'ébauche globale, prévue pour le printemps 2000 et trois à quatre ans pour l'aboutissement d'un séquençage définitif de grande qualité (moins d'une erreur tous les cent mille nucléotides), prélude à la compréhension des protéines sécrétées.

Pour parvenir à ces résultats, les NIH ont réparti 493 millions de francs entre les trois plus grands groupes publics impliqués dans le séquençage :

- Whitehead Institute à Cambridge (Massachusetts)
- Washington University School of Medicine à Saint-Louis (Missouri) ;
- Baylor College of Medicine à Houston (Texas).

L'institut américain du génome, du département de l'énergie (Joint Genome Institute of the US Department of Energy, à Walnut Creek, California) a associé ses efforts à ceux de ces trois grands centres.

Dans le même temps, la fondation britannique Wellcome Trust a annoncé le versement, dans les douze mois à venir, d'une somme de 460 millions de francs au Centre Sanger (Royaume-Uni). Le Centre Sanger a été fondé en 1993 par le Wellcome Trust (la plus grande association mondiale pour la recherche médicale) et le Medical Research Council. C'est l'un des centres les plus productifs du monde ; il devrait produire, à lui seul, un tiers du séquençage du génome humain en 2001.

Les raisons de cette brusque accélération du décryptage du génome humain sont de deux ordres.

- Tout d'abord, le progrès technique a permis d'accroître les vitesses de séquençage : en 1992 les chercheurs identifiaient un million de bases par an. À ce rythme, il aurait fallu près d'un siècle pour achever le séquençage du génome

humain. À l'heure actuelle, la vitesse de séquençage est dix fois plus élevée, grâce à des appareils tels que les Mega Bace 1000 ou les Abi Prism 3700. Non seulement on peut séquencer beaucoup plus vite, mais aussi beaucoup moins cher : le coût de la base séquencée est passé de 5 dollars en 1990 aux États-Unis à 50 cents aujourd'hui.

- Par ailleurs, cette accélération est liée à la « course » récemment née entre la recherche publique internationale et le secteur privé.

Le généticien américain Craig VENTER a fait sensation en annonçant, le 9 mai 1998 : « J'ai un plan pour achever de façon substantielle le séquençage du génome humain dans les trois ans à venir ». Pour ce faire, le fondateur de l'Institut de recherche génomique (TIGR à Rockville, Maryland) a créé une société privée, la firme Celera Genomics, en s'associant au géant américain de l'électronique, Perkin Elmer. Celera Genomics s'est équipée de 230 séquenceurs Abi-Prism 3700 dont le prix unitaire est de 300 000 dollars.

Puis la société Incyte Genetics créée en août 1998 par Incyte Pharmaceuticals, pour concurrencer Celera Genomics, a annoncé qu'elle séquencerait et cartographierait le génome humain d'ici 2001. Elle utilise des séquenceurs Mega Bace 1000 et a déjà établi de fortes relations commerciales avec plus de vingt grandes compagnies pharmaceutiques à travers le monde pour leur vendre les informations issues de ses recherches.

Cette émergence du secteur privé explique en grande partie le récent et massif engagement de la recherche publique internationale : il existe de grandes différences entre les objectifs des uns et des autres.

1.1.1.2.2. La divergence des approches publiques et privées dans le séquençage du génome humain

1.1.1.2.2.1. Deux logiques de recherche différentes

Les sociétés privées ont une stratégie de séquençage aléatoire sans cartographie préalable qui se veut rapide et puissante. Toutefois leur technique peut éventuellement se révéler peu efficace et en tout état de cause elle produit un séquençage « à trous ».

Le séquençage aléatoire rapide sans cartographie préalable n'a jusqu'alors démontré son efficacité que sur des génomes simples et pourrait marquer ses limites pour des génomes plus grands.

Aussi, Celera Genomics, avant de décrypter le génome humain, va tester sa méthode en séquençant le génome de la mouche du vinaigre

Drosophila melanogaster (120 millions de bases). Si cette technique échoue pour la drosophile, elle a peu de chance de réussir pour le génome humain, infiniment plus important et plus complexe. Et même si elle donne satisfaction pour la drosophile, elle ne sera pas forcément transférable pour le génome humain.

Quant à Incyte Genetics, elle a déjà testé sa technique en menant à bien le séquençage complet d'une levure (*Candida albicans* : 17 millions de bases). Pour cette société se posera aussi le problème de la taille du génome humain composé de 3 milliards de bases.

De toute façon, ce type de séquençage est effectué fragment par fragment, chacun d'entre eux comprenant environ 500 bases. Cela aboutit à une séquence très morcelée du génome constituée de dizaines voire de centaines de petits segments, non ou mal positionnés sur les cartes existantes.

Pour reconstituer dans ce puzzle des morceaux cohérents correspondant aux séquences des gènes, un gigantesque travail de réassemblage restera à faire. Il manquera inévitablement des morceaux importants, le résultat étant un séquençage « à trous ».

Selon Jean WEISSENBACH, « *On ne peut pas croire que, comme le dit Craig VENTER, les « trous » restants au terme de son travail ne représenteront que moins de 10 millièmes du génome humain. Son programme comporte de nombreux mystères d'un point de vue méthodologique. En réalité, tout laisse à penser que cette équipe entend réaliser un « écrémage» lui permettant de trouver toute une série de choses intéressantes à breveter rapidement* »¹.

Au contraire, les laboratoires du programme international public isolent des fragments de chromosomes et les ordonnent entre eux avant le séquençage, ce qui nécessite, au préalable, une cartographie fine des chromosomes. De plus, ils procèdent à dix vérifications pour chaque séquence, quand les équipes du secteur privé n'en font que trois. Cette technique est moins rapide mais le succès est assuré, ainsi que la qualité des résultats obtenus².

Toutefois, il semblerait que dans un premier temps les chercheurs publics aient décidé, en ce qui concerne le génome humain, de procéder de manière prioritaire au séquençage aléatoire à faible profondeur en continuant toutefois à ordonner les clones de fragments d'ADN sur une carte de préséquencage.

¹ Le Monde - 3 juin 1998.

² Cf. entretien du rapporteur avec M. Manfred ZORN. Center for bioinformatics and computational genomics. Université de Berkeley, Californie. 2 avril 1999.

Cette technique permettrait d'obtenir pour le printemps 2000 l'ébauche globale. Cette étape sera bien entendu immédiatement suivie par un séquençage définitif de grande qualité. Retenir cette solution d'un séquençage en deux temps a pour avantage de fournir rapidement des données partielles mais suffisantes pour des projets de recherche de gènes responsables de maladies dans des régions données. L'offre de ces données, par le secteur public est essentielle car, là encore, les stratégies du privé et du public divergent.

1.1.1.2.2.2. Deux logiques d'accès aux connaissances

Les chercheurs du public craignent que les grandes entreprises privées de génomique ne confisquent l'information, alors que l'accès à celle-ci est un élément de base indispensable pour la communauté scientifique.

En 1992, Craig VENTER, alors chercheur aux NIH, avait déposé des centaines de demandes de brevets sur des gènes dont l'intérêt biologique n'était pas prouvé. Devant la polémique internationale déclenchée par cette initiative, les NIH avaient renoncé, sans que les règles du jeu de la brevetabilité aient été pour autant clarifiées.

Aujourd'hui Craig VENTER et ses associés ont l'intention de créer une banque de données sur le génome humain dont personne ne sait exactement quelles seront les conditions d'accès.

Par ailleurs, l'Office américain des brevets a accordé en mars 1999 à la société Incyte le premier brevet sur des marqueurs d'expression du génome (il s'agit de portions d'ARN messagers, molécules indispensables à l'expression des gènes, appelées « *Expressed Sequence Tags* » EST).

Or, la position des chercheurs publics est toute autre. Selon des accords internationaux issus des réunions des centres d'études du génome aux Bermudes, toute portion d'ADN séquencée à l'aide de fonds publics doit être publiée dans la littérature scientifique et diffusée rapidement sur Internet afin d'être disponible pour la communauté des chercheurs.

De plus, tout récemment, les cinq plus grands laboratoires publics de séquençage (Whitehead Institute, Washington University School of Medicine, Baylor College of Medicine, Joint Genome Institute, Sanger Centre) se sont engagés à rendre publics leurs résultats dans un délai de vingt-quatre heures : « *Par cet effort majeur de financement public, nous permettons que les résultats restent dans le domaine public, en libre accès pour les chercheurs qui mettent au point les traitements du futur. C'est crucial pour en recueillir de manière*

efficace les vrais bénéfiques médicaux » a indiqué Michael MORGAN, directeur du Wellcome Trust Genome Campus¹.

1.1.1.3. Les résultats déjà obtenus ou attendus et l'intérêt de ces résultats

1.1.1.3.1. Le génome humain

Bien que son séquençage complet ne soit pas réalisé, les chercheurs ont déjà identifié de très nombreux gènes impliqués dans les processus pathologiques. Il est très difficile d'en présenter une liste exhaustive. On ne peut que citer les découvertes les plus récentes :

- Une équipe française vient de démontrer que le cancer du sein de type médullaire est une entité biologique dans laquelle on trouve 100 % de mutation du gène p 53, déjà suspecté précédemment d'avoir un rôle important dans le processus cancéreux.

- L'unité de génétique des déficits sensoriels de l'Institut Pasteur vient de mettre en lumière le fait que plus de la moitié des surdités héréditaires de l'enfant sont dues à des mutations dans un gène unique, le DFNB1.

Aujourd'hui, on estime à 1 500 le nombre de gènes responsables de maladies strictement génétiques identifiés. Mais il est évident que des milliers d'autres gènes, en partie identifiés, sont impliqués dans des pathologies plus courantes (cancer, diabète, maladies cardio-vasculaires ou neurologiques).

Par exemple, au 1^{er} mars 1999, 487 gènes de maladies ont été localisés et 77 gènes de maladies ont été identifiés avec l'aide de l'AFM et/ou de Généthon.

¹ Le Monde. 24 mars 1999.

Ces gènes se répartissent ainsi :

- Maladies neurologiques et psychiatriques	28 %
- Malformations congénitales Anomalies chromosomiques	13 %
- Maladies oculaires	11 %
- Maladies neuromusculaires	8 %
- Maladies métaboliques et endocriniennes	6 %
- Maladies systémiques	5 %
- Maladies cardiovasculaires	5 %
- Maladies dermatologiques	5 %
- Maladies ostéo-articulaires	4 %
- Surdité	4 %
- Maladies cancéreuses	4 %
- Maladies urogénitales	3 %
- Maladies de l'appareil digestif	3 %
- Maladies hématologiques	1 %

1.1.1.3.2. Le génome d'agents responsables de maladies

Si l'on excepte celui des très petits virus, le premier séquençage complet remonte à 1995. C'est celui d'*Haemophilus influenzae* (1,93 million de bases), suivi en 1996 par celui de *Mycoplasma genitalium* (9,58 millions de bases). Puis, à partir de 1996, ont été séquencés les génomes de :

- *Mycoplasma pneumoniae* (810 000 bases) ;
- *Helicobacter pylori* (1,66 million de bases), tenu depuis peu pour responsable de l'ulcère de l'estomac ;
- *Escherichia coli* (4,6 millions de bases) ;
- *Borrelia burgdorferi* (1,44 million de bases), agent pathogène de la maladie de Lyme ;
- *Mycobacterium tuberculosis* ou bacille de Koch. Le génome de ce bacille, composé de 4,41 millions de bases formant 4 000 gènes, a fini d'être séquencé en juin 1998 par une équipe de 42 chercheurs dirigés par le Professeur Stewart COLE, chef de l'unité de génétique moléculaire à l'Institut Pasteur de Paris et par Bart BASSEL du Centre Sanger au Royaume-Uni.

On peut espérer d'autres découvertes dans un avenir assez proche :

- Des biologistes américains ont réalisé la carte chromosomique de la bactérie responsable de la syphilis et vont commencer son séquençage.

- Les génomes d'agents pathogènes tels que *Streptococcus pneumoniae* (2,2 millions de bases) et *Rickettsia prowazekii* (1,1 million de bases) sont à l'étude, de même que ceux de *Vibrio cholerae* (2,5 millions de bases), responsable du choléra et *Plasmodium falciparum*, responsable du paludisme.

- Les génomes dont l'étude donnera des résultats un peu plus tard sont ceux d'agents pathogènes responsables de maladies malheureusement bien connues : *Listeria monocytogenes*, *Candida albicans*, *Legionella pneumophila* (maladie du légionnaire), *Mycobacterium leprae* (lèpre), *Neisseria gonorrhoeae* (gonococcie), *Staphylococcus aureus* (infections graves, notamment la septicémie), *Trypanosoma brucei rhodosiense* (maladie du sommeil) *Yersinia pestis* (peste).

Les génomes des organismes eucaryotes¹

Là encore, il est impossible d'être exhaustif mais l'on peut citer notamment les séquençages sur lesquels travaille le Génoscope d'Évry :

- l'*Arabidopsis thaliana* (arabette, petite crucifère de la famille du colza et du chou) ;

- Le *Tetraodon fluviatilis*, un poisson à génome « compact » c'est-à-dire débarrassé de l'ADN « superflu » (non codant).

Il convient également d'évoquer la levure *Saccharomyces cerevisiae*, le premier organisme eucaryote dont le génome ait été séquencé, en 1996, grâce à un programme international placé sous la responsabilité du professeur A. GOFFEAU de l'Université de Louvain en Belgique.

Enfin, il faut souligner l'importance exceptionnelle d'un récent succès : le séquençage du génome d'un animal a été achevé au début de l'année 1999 ; c'est celui du ver *Caenorhabditis elegans*.

Ses 97 millions de bases forment plus de 19 000 gènes dont 12 000 encore inconnus. Ce travail considérable a été réalisé par l'Université Washington de Saint-Louis et le Sanger Center du Royaume Uni.

¹ Le génome des organismes eucaryotes tels que les plantes, les animaux, les champignons, les levures, est protégé par une membrane à l'intérieur du noyau de la cellule.

L'intérêt de ces séquençages

• En ce qui concerne les génomes des bactéries pathogènes, l'utilité de leur décryptage est évidente. Un exemple en a été fourni très récemment avec le séquençage du *Mycobacterium tuberculosis* ou bacille de Koch. La tuberculose connaît aujourd'hui une inquiétante recrudescence et tue chaque année plus de 3 millions de personnes dans le monde, les vaccins demeurant bien faibles devant la maladie. Or le séquençage du *Mycobacterium tuberculosis* a permis, en octobre 1998, à des chercheurs de l'unité de génétique mycobactérienne de l'Institut Pasteur de Paris d'identifier un gène responsable de la virulence du bacille de la tuberculose. Appelé *erp*, ce gène commande la production d'une protéine dont le bacille a besoin pour se multiplier dans les cellules qu'il infecte. Inactiver ce gène pourrait permettre d'atténuer la virulence du bacille et de produire de nouveaux vaccins, en particulier des vaccins vivants atténués.

D'une façon plus générale, il est certain que connaître l'ensemble des gènes et donc des protéines d'un organisme pathogène est un préalable indispensable à la compréhension des mécanismes pathologiques induits par ces espèces.

« Cette connaissance devient cruciale à l'heure où l'on assiste à une généralisation du phénomène de résistance aux antibiotiques et aux moyens de lutte contre les parasites. Il devient essentiel d'inaugurer de nouvelles voies de lutte contre les pathogènes. On peut même penser qu'en raison de leur extraordinaire capacité d'évolution, de nouvelles variétés insensibles aux nouveaux agents anti-pathogènes ne vont cesser d'apparaître en réponse à l'utilisation de ces agents. La connaissance du génome permettra néanmoins de connaître rapidement les changements clés chez ces variants et de prendre des mesures appropriées »¹.

- En ce qui concerne les génomes d'organismes eucaryotes, leur intérêt réside essentiellement dans les possibilités de comparaison avec le génome humain qu'ils offrent. L'utilité de génomes d'espèces utilisées comme modèles expérimentaux, comme la souris, dont la physiologie est proche de l'homme, est évidente. Mais les génomes d'organismes très éloignés de l'homme peuvent être très intéressants également.

Si l'on prend l'exemple de la levure *Saccharomyces cerevisiae*, on constate que certaines protéines humaines ont une séquence en acides aminés qui ressemble de façon significative à celle d'une protéine de levure : ces protéines sont « homologues ». Selon les scientifiques, près de 40 % des gènes connus pour être impliqués dans une maladie génétique humaine ont un

¹ Jean WEISSENBACH. ENA Mensuel n° 285.

homologue chez la levure¹. Mais l'on ignore souvent le rôle des protéines que codent ces gènes humains. La levure peut alors fournir une indication sur la fonction des protéines. Le schéma de recherche est le suivant : le gène responsable d'une maladie génétique humaine est identifié ; la fonction de la protéine qu'il code est inconnue ; un homologue du gène existe chez la levure ; on utilise alors la levure comme une « éprouvette biologique » car il est aisé de détruire ou remplacer un gène précis dans un organisme tel que la levure et cela permet de commencer à décrypter le rôle et le fonctionnement des gènes dont l'équivalent humain provoque une maladie génétique. Cette méthode a, par exemple, été utilisée pour étudier l'ataxie de Friedreich (maladie due à une dégénérescence des neurones entraînant des handicaps physiques graves et une cardiomyopathie).

De même, le séquençage du génome du *Caenorhabditis elegans* aura des conséquences importantes, toujours grâce au caractère homologue de nombreux gènes humains avec ceux d'espèces bien différentes ; grâce à des années de recherche intensive, la fonction de nombreux gènes du ver est déjà connue. Les possibilités d'études comparatives seront donc nombreuses.

• En ce qui concerne le génome humain, l'utilité de son décryptage est évidente, ainsi que le rappelle le Professeur Jean WEISSENBACH.

« Plus de 6 000 maladies d'origine clairement génétique, conséquence d'un défaut au niveau d'un gène, ont été répertoriées à ce jour. Ces maladies génétiques souvent incurables sont cependant rares, elles affectent un nouveau-né sur 1 000 à 100 000, voire moins. Depuis une dizaine d'années, les gènes responsables des maladies génétiques les plus fréquentes sont progressivement identifiés.

Ils constituent le point de départ à une approche rationnelle de la thérapie. Cette identification est considérablement facilitée lorsqu'on dispose de la séquence de l'ADN de la région dans laquelle le gène a pu être localisé. Cette localisation, elle-même encore très laborieuse il y a quelques années, s'est considérablement améliorée grâce à la cartographie du génome humain, préalable indispensable au séquençage. À ce jour, près de 1 500 gènes responsables de maladies génétiques ont été identifiés.

À côté de ces maladies strictement génétiques, d'autres pathologies beaucoup plus communes comme le diabète, les maladies cardiovasculaires, neuropsychiatriques, etc., ont elles aussi une composante génétique dans leur origine en général complexe. La recherche des gènes prédisposant à ces pathologies fréquentes devrait permettre de disposer de nouvelles cibles pour les médicaments du futur. Ces gènes représentent donc des enjeux majeurs pour

¹ Françoise FOURY. Revue Gène. 195.1.1997.

l'industrie pharmaceutique, et la plupart des grands groupes internationaux se sont lancés dans de grands programmes visant à identifier les facteurs génétiques prédisposant aux pathologies communes. Ces travaux n'ont pas encore abouti à des découvertes majeures mais la séquence complète du génome humain devrait aussi considérablement faciliter la recherche de ces gènes.

Le diagnostic de maladies et de prédispositions génétiques reposera lui aussi sur la séquence du génome. À ce jour, cette activité, qui a bénéficié de nombreux progrès technologiques, est déjà largement répandue. La connaissance de la séquence complète du génome va cependant provoquer une véritable explosion dans le domaine du diagnostic génétique dans le but d'orienter de manière beaucoup plus ciblée les traitements et éventuellement de mettre en place de nouveaux modes de prévention¹ ».

¹ ENA Mensuel n° 285.

CARTE DU GÉNOME HUMAIN

**Localisation sur les chromosomes de certains gènes
dont les mutations, associées ou non à d'autres mutations et mécanismes, sont impliquées
dans l'apparition, l'évolution et la gravité de certaines maladies**

Chromosome 1

- Cataracte congénitale
- Maladie de Charcot (atrophie musculaire progressive)
- Facteur rhésus
- Surdité de perception dominante
- Prédisposition au cancer du poumon à petites cellules
- Glaucome primaire à angle ouvert (forme précoce)
- Prédisposition au cancer de la prostate
- Maladie d'Alzheimer
- Urticaire familial au froid
- Susceptibilité à la dyslexie

Chromosome 2

- Glaucome congénital
- Cancer du côlon (forme non polyposique)
- Gène freinant la croissance musculaire
- Prédisposition au diabète sucré insulino-dépendant
- Cataracte congénitale dominante
- Diabète sucré non insulino-dépendant
- C civit  nocturne congénitale

Chromosome 3

- Prédisposition à la schizophrénie
- Cancer du côlon (forme non polyposique)
- C civit  nocturne congénitale stationnaire
- Cancer familial du rein
- Maladie inflammatoire de l'intestin (maladie de Crohn)
- Surdité de perception récessive
- Alcaptonurie (première maladie métabolique décrite)
- Ob sitt  sévère
- Intolérance au saccharose

Chromosome 4

- Nanisme (forme achondroplasie, hypochondroplasie)
- Chorée de Huntington (  partir de 40 ans, tremblements puis démence)
- Surdité de perception dominante
- Diabète (atrophie optique, surdité)
- Prédisposition à l'alcoolisme
- Psychose maniaco-dépressive
- Prédisposition au psoriasis
- Prédisposition familiale à la maladie de Parkinson

Chromosome 5

- Déficit de l'attention et hyperactivité
- Nanisme hypophysaire résistant à l'hormone de croissance
- Facteur de prédisposition à la sclérose en plaques
- Résistance aux cortico ides (par défaut du récepteur)
- Prédisposition à la schistosomiase
- Perte progressive de l'audition

Chromosome 6

- Prédisposition à la schizophrénie
- Spondylarthrite ankylosante
- Système HLA d'histocompatibilité (*Human Leucocyte Antigen*)
- Hémochromatose
- Prédisposition à la sclérose en plaques
- Susceptibilité à la dyslexie
- Athérosclérose coronarienne

Chromosome 7

- Cancer du côlon (non polyposique)
- Nanisme hypophysaire
- Surdité de perception dominante
- Glioblastome multiforme (tumeur maligne du système nerveux central)
- Maladie des os de verre (ostéogénèse imparfaite)
- Autisme
- Surdité de perception récessive
- Mucoviscidose
- Prédisposition à l'ob sitt 
- Prédisposition à la schizophrénie

Chromosome 8

-  pilepsie précoce
- Maladie de Werner (vieillesse prématuré de l'enfant)
- Alopécie universelle héréditaire
- Prédisposition à la schizophrénie
- Prédisposition à l'épilepsie généralisée
- Goitre
- Convulsions néonatales familiales bénignes

Chromosome 9

- Albinisme oculo-cutané
- Mélanome cutané malin
- Galactosémie (impossibilité pour les enfants de digérer le lait)
- Hypomagnésémie
- Hirsutisme
- Système sanguin ABO
- Intolérance au fructose

Chromosome 10

- Fente labiopalatine
- Épilepsie partielle avec manifestations auditives
- Surdité de perception auditive
- Vitiligo (dépigmentation locale de la peau)
- Obésité sévère
- Atrophie de la choroïde et de la rétine

Chromosome 11

- Prédiposition au diabète sucré insulino-dépendant
- Thalassémie-bêta (maladie de l'hémoglobine)
- Drépanocytose (maladie du sang)
- Aniridie (absence d'iris)
- Surdité de perception dominante
- Albinisme oculo-cutané
- Hyperlipidémie complexe
- Psychose maniacodépressive
- Arythmie cardiaque

Chromosome 12

- Prédiposition aux maladies inflammatoires de l'intestin
- Rachitisme vitaminodépendant
- Rachitisme vitaminorésistant (défaut dans le métabolisme de la vitamine D)
- Hyperimmunoglobuline E et asthme
- Diabète sucré non insulino-dépendant
- Rougeur faciale à l'ingestion d'alcool
- Phénylcétonurie (dépistée à la naissance par le test de Guthrie)

Chromosome 13

- Surdité dominante
- Surdité récessive
- Dystrophie musculaire de l'enfant
- Énurésie nocturne héréditaire
- Cancer du sein à début précoce (gène BRCA2)
- Rétinoblastome
- Maladie de Wilson (ATPase transporteuse de cuivre entraînant une encéphalopathie)

Chromosome 14

- Prédiposition à l'atopie (eczéma)
- Surdité de perception (débutant après l'acquisition du langage)
- Maladie d'Alzheimer
- Prédiposition au diabète sucré insulino-dépendant
- Hyperthyroïdie congénitale
- Prédiposition à la sclérose en plaques
- Emphysème, hépatite néonatale et cirrhose

Chromosome 15

- Susceptibilité à la dyslexie
- Albinisme oculo-cutané tyrosinase positif (« pink eyed »)
- Maladie de Marfan (membres longs et taille très haute avec altération du tissu conjonctif)
- Athérosclérose coronarienne
- Diabète sucré insulino-dépendant

Chromosome 16

- Psychose maniacodépressive
- Maladie périodique (fièvre méditerranéenne)
- Thalassémie-alpha (maladie de l'hémoglobine)
- Cataracte et microphthalmie
- Cataracte polaire postérieure
- Cataracte zonulaire dominante
- Maladie inflammatoire de l'intestin (maladie de Crohn)
- Hypertension (alcalose hypokaliémique)

Chromosome 17

- Prédiposition au cancer du sein (gène BCCR)
- Prédiposition à tous les cancers
- Asthme sévère
- Prédiposition au psoriasis
- Désinhibition, démence et amyotrophie
- Prédiposition au cancer du sein et de l'ovaire (gène BRCA1)
- Prédiposition à la sclérose en plaques
- Risque d'infarctus du myocarde
- Nanisme hypophysaire
- Diabète sucré non insulino-dépendant

Chromosome 18

- Psychose maniacodépressive
- Obésité précoce, cheveux roux
- Myopie importante
- Prédiposition à la sclérose en plaques
- Prédiposition au diabète sucré insulino-dépendant
- Cancer du côlon

Chromosome 19

- Migraine hémiplégique
- Diabète sucré non insulino-dépendant résistant à l'insuline
- Hypercholestérolémie familiale (récepteur LDL)
- Crises migraineuses avec aura et lésions cérébrales
- Surdité de perception dominante
- Maladie d'Alzheimer à début tardif
- Athérosclérose coronarienne

Chromosome 20

- Déterminant quantitatif de la stature
- Insomnie, dysautonomie, forme héréditaire de la maladie de Creutzfeldt-Jakob
- Diabète insulino-dépendant type tardif du sujet jeune
- Déficit immunitaire combiné sévère (adénosine désaminase)
-  pilepsie frontale nocturne dominante
- Convulsions bénignes du nouveau-né

Chromosome 21

- Maladie d'Alzheimer
- Sclérose latérale amyotrophique (maladie touchant Stephan Hawking)
- Psychose maniaco-dépressive
- Syndrome de Down
-  pilepsie myoclonique progressive

Chromosome 22

- Cardiopathies congénitales
- Syndrome de l' il de chat
- Prédisposition à la schizophrénie
- Autisme, retard mental
- Malabsorption du glucose et du galactose

Chromosome X

- Prédisposition à la schizophrénie
- Maladie de Duchenne de Boulogne
- Myopie
- Goutte
- Psychose maniaco-dépressive
- H mophilie type B (facteur X)
- C civit  aux couleurs monochromatiques
- C civit  aux couleurs (daltonisme), c civit  au vert (deutéranopie)
- H mophilie A (facteur VIII)
- 41 gènes impliqués dans le retard mental lié à l'X

Chromosome Y

- Facteur déterminant dans la régulation des gènes contrôlant le développement des testicules ; dysgénésie gonadique (femme XY)
- Azoospermie

Documentation AFM.

1.1.2. LA BIO-INFORMATIQUE

La bio-informatique, combinaison de l'informatique et de la biologie, est la science sans laquelle aucune des découvertes évoquées ci-dessus ni aucune de celles qui en découleront n'aurait été possible. Domaine fondateur de la génomique, la bio-informatique est constituée de l'ensemble des concepts et des techniques nécessaires à l'acquisition et à l'interprétation de l'information génétique. Elle seule permet de gérer cette information, qui est quantitativement considérable.

La bio-informatique, véritable clé de la génomique, en est un outil indispensable : à partir d'une séquence d'ADN nouvellement identifiée, elle permet de retrouver les séquences similaires déjà décrites dans des banques de données, construire des séquences « virtuelles » issues de leur assemblage, déduire quels sont les gènes associés et leur distribution au niveau d'un organe ou d'un tissu, établir un lien entre des gènes présents dans une pathologie et la présence en surabondance d'une certaine protéine in situ, prédire la structure, et même la fonction de cette protéine, cible potentielle pour un futur médicament.

La bio-informatique est rendue indispensable par la quantité même d'informations qu'elle permet de recueillir en décryptant le génome. *« Le nombre de données est tellement important qu'il est impensable qu'on soit aujourd'hui en mesure de les interpréter dans toute leur complexité et ainsi parvenir à les intégrer dans un schéma global de fonctionnement de la cellule. C'est dire, dans le long terme, l'importance du pari de la bio-informatique pour tirer le meilleur parti de l'utilisation de cette technologie révolutionnaire. »*¹

1.1.2.1. L'acquisition et l'analyse de l'information génétique

◆ L'activité de séquençage consiste à transformer de la matière en information. Dans un premier temps, il s'agit d'utiliser des programmes informatiques qui, intégrés aux séquenceurs permettent de décrypter les fragments d'ADN, de les « lire ».

◆ Intervient ensuite des moyens d'analyse intensive de la séquence :

¹ Pierre CASELLAS, Directeur du centre d'immunologie de Sanofi Recherche à Montpellier.

- Les supercalculateurs :

Des moyens de calculs importants mettant en oeuvre des techniques d'analyse d'images et de compression de données permettent non seulement d'organiser la grande quantité de données brutes générées quotidiennement, mais aussi de reconstituer la séquence de longues régions du génome à partir d'éléments beaucoup plus petits. On est ainsi amené à reconstituer des puzzles dont chacune des pièces est une séquence que l'on comparera à toutes les autres. Pour un génome bactérien entier, par exemple, la reconstitution du puzzle peut demander plus de **deux cent mille milliards de comparaisons de caractères**.

Les séquences reconstituées doivent ensuite être comparées à celles déterminées par des milliers de chercheurs à travers le monde et stockées dans des bases de données internationales : ces comparaisons sont actuellement le meilleur moyen d'attribuer une fonction biologique aux séquences.

- L'algorithmique du génome :

C'est ce qui permet le calcul de certaines occurrences, de relations phylogénétiques, et la mise en évidence de phénomènes inattendus par l'examen systématique des données. Pour la détection et la prédiction des gènes, pour la connaissance des structures et des fonctions des protéines correspondantes, il est indispensable, en effet, de rechercher des événements tels que la présence simultanée de plusieurs motifs dans une configuration donnée.

◆ Enfin, l'ultime étape de la connaissance génomique, c'est-à-dire la découverte de la structure des protéines passe aussi par l'informatique. Celle-ci permet en effet, à partir des données sur les séquences ou motifs de séquences, de reconstruire la structure spatiale des protéines. Cette structure en trois dimensions est indispensable à la conception de molécules capables d'interagir avec les protéines.

1.1.2.2. L'organisation et la conservation de l'information

C'est ce que certains appellent l'informatique d'intégration. L'informaticien essaie d'assister le biologiste dans l'organisation des résultats et la mise en concordance d'observations scientifiques distinctes, qui lui permettent d'émettre une hypothèse et de la valider sur de grands ensembles de données. Elle consiste notamment à constituer de gigantesques bases de données, à permettre la recherche d'informations (« *data mining* ») et la mise en évidence de « voisinage » à partir des connaissances scientifiques publiées et de banques de données spécialisées.

Par ailleurs, la découverte des séquences génomiques de plus en plus nombreuses suppose que soit rapidement assurées, par la constitution de bases de données « d'archives », la conservation et bien entendu la mise à jour des séquences, ainsi que le classement par niveaux de complexité croissants, des résultats de la démarche génomique d'ensemble (séquences, structures, fonctions, propriétés physiologiques, etc.).

- La communication de l'information

Elle suppose la constitution de réseaux d'information cohérents, homogènes en format et en qualité permettant, par des échanges nationaux et internationaux, de mettre en commun les connaissances, les technologies et les compétences.

À l'heure actuelle les standards d'Internet structurent le développement des environnements informatiques appliqués à la biologie moléculaire. C'est bien entendu la démarche suivie au Génoscope d'Évry :

« Les données produites au Génoscope sont mises à la disposition des autres membres de la communauté scientifique internationale. Réciproquement, le Génoscope réactualise journallement les bases des données produites ailleurs dans le monde, via Internet. Chaque jour, il met ainsi de l'ordre de plusieurs millions d'octets de données nouvelles à disposition sur le réseau et recueille des millions d'octets représentant les nouvelles données découvertes par des biologistes du monde entier. À cette fin, nous exploitons une connexion au réseau qui permet d'échanger deux millions de bits (Mbits) -250 000 octets- par seconde.¹ »

¹ Fiche « Informatique et séquençage ». Génoscope.

1.1.3. LES BIOPUCES

1.1.3.1. Les technologies utilisées

◆ L'hybridation : théorie

Le concept de biopuce ou puce à ADN date du début des années 1990. Il a été à cette époque décrit par quatre équipes différentes, en Grande-Bretagne, en Russie et aux États-Unis. Il repose sur une technologie pluridisciplinaire intégrant la micro-électronique, la chimie des acides nucléiques, l'analyse d'images et la bio-informatique. Le principe de fonctionnement de ces puces repose sur un fondement de la biologie moléculaire : le phénomène de l'hybridation, c'est-à-dire l'**appariement par complémentarité des bases de deux séquences d'ADN**. Par analogie, on peut comparer ce mécanisme à celui de la fermeture éclair... En effet, les brins extraits de la double hélice d'ADN ont la capacité de reformer spontanément cette double hélice dès qu'ils se retrouvent face au brin complémentaire ; les quatre molécules élémentaires de l'ADN ont la particularité de s'unir deux à deux : l'**adénine avec la thymine, la cytosine avec la guanine**.

Le phénomène de l'hybridation permet d'identifier une séquence de nucléotides, c'est-à-dire l'enchaînement des bases d'un fragment d'ADN en mettant ce dernier en présence d'autres brins d'ADN, dont la séquence est connue.

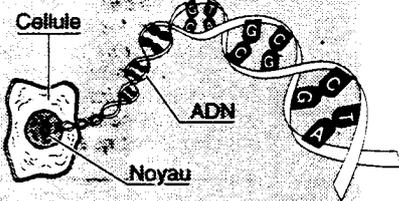
Par exemple, face à des brins d'ADN synthétique représentatifs d'une maladie, les brins extraits de l'ADN du patient vont hybrider si le malade est porteur de l'affection recherchée.

Le problème est « d'offrir » aux brins d'ADN du patient la possibilité d'hybrider avec de nombreux brins d'ADN synthétiques représentant les différents gènes correspondant à une pathologie, sous leurs différentes formes.

Une micro machine pour lire le code génétique

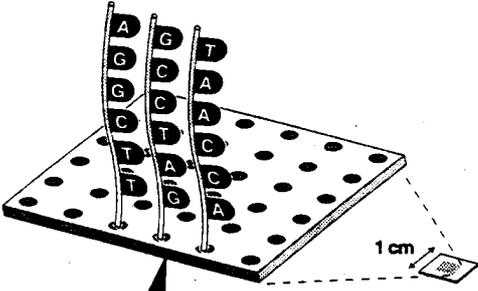
La puce à ADN (ou biopuce) sert à reconnaître une séquence d'ADN particulière. Ici, une séquence de 6 lettres.

► **Le code génétique :**
Le code génétique est inscrit sur la double hélice de la molécule d'ADN au cœur de chacune de nos cellules. Il se compose de combinaisons de 4 « lettres », les bases A, T, C et G. Les A ne s'apparient qu'avec les T, les C qu'avec les G.



Cellule
ADN
Noyau

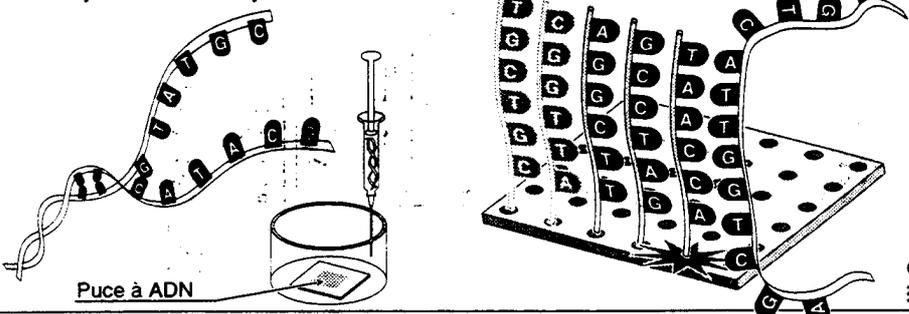
- Sur la puce (environ 1cm de côté) sont fixées des « sondes » : des fragments d'ADN représentant toutes les combinaisons possibles de 6 lettres soit $4^6 = 4096$ sondes.



1 cm

Chaque sonde est reliée à une micro-électrode

- Pour identifier la séquence d'ADN, on sépare les deux brins. La puce est plongée dans une solution, on injecte le brin à analyser.
- Le brin va s'apparier automatiquement à sa séquence complémentaire en quelques secondes. L'électrode réagit, indiquant quelle est la séquence appariée.



Puce à ADN

W&G

Source : Le Figaro, 13 novembre 1997.

◆ Le support

Les brins synthétiques utilisés, ceux dont on connaît la séquence, s'appellent des sondes. Les puces à ADN présentent, par rapport aux méthodes classiques d'hybridation un avantage majeur : grâce aux techniques de miniaturisation elles permettent l'hybridation simultanée d'un nombre de sondes considérables sur une surface totale utile inférieure à 1 cm^2 . Les supports sur lesquels sont fixées les sondes se présentent sous la forme de surfaces planes ou poreuses (percées de puits) composés de matériaux tels que :

- **le verre**, matériau peu onéreux, inerte et mécaniquement stable. Il est notamment utilisé par l'entreprise américaine Affymetrix et le consortium Genosensor). La société américaine Protogene (Palo Alto, Californie) avec laquelle les chercheurs de l'équipe du Professeur Francis GALIBERT, du

CNRS, ont passé des accords de partenariat utilise une ingénieuse technique : la petite plaque de verre, substrat de la puce, est recouverte d'une grille de Teflon (qui détermine des zones hydrophiles et hydrophobes).

- **les polymères** sont à la base des techniques développées par l'équipe d'Andrei MIRZABEKOV (Argonne, Illinois) ainsi que par les chercheurs de la société CIS Bio-international qui utilisent plus précisément le polypyrrole ;

- **le silicium**, couramment utilisé pour la fabrication des puces électroniques à cause de ses propriétés semi-conductrices (matériau choisi par plusieurs équipes et notamment par le laboratoire IFOS de l'École centrale de Lyon - UMR 5621 du CNRS).

- les métaux, notamment **l'or et le platine** (utilisés par la société américaine Nanogen et le Consortium Genosensor).

◆ La fixation des sondes

Quel que soit le support choisi, il est traité pour former un réseau dense et régulier de microsursaces et sur chacune de celles-ci est greffée une sonde d'ADN synthétique. Il existe deux méthodes : le transfert de brins d'ADN ou sa synthèse *in situ*.

- La **synthèse préalable** à la fixation des sondes permet de fixer des sondes relativement longues, atteignant 40 à 60 bases. Le **transfert** de ces sondes sur la puce peut se faire au moyen de micropipettes, de micropointes ou par des dispositifs de type jet d'encre.

Un autre système, choisi par la société CIS Bio International en collaboration avec les chercheurs du CEA à Grenoble (LETI)¹ est l'adressage électrochimique : la puce est composée d'un support en silicium recouvert, à chaque plot d'une mini-électrode en or. Chaque sonde rejoint un plot particulier lorsque les mini-électrodes sont mises sous tension sélective.

Les méthodes d'adressage des sondes sont fondamentales : leur performance, leur capacité à être automatisées et leur coût de fonctionnement pèsent lourd dans le développement de la technologie des puces à ADN.

- **La synthèse *in situ*** : dans ce cas, la construction des sondes se fait par dépôt de couches successives des quatre bases de l'ADN sur un support en verre. C'est un masque, dont la configuration varie à chaque dépôt d'une couche, qui permet aux bases de s'empiler correctement. Avec ce procédé, utilisé par Affymetrix, les sondes comportent au maximum 30 bases.

¹ Laboratoire d'électronique, de technologie et d'instrumentation.

Là encore, la société Protogene innove : elle a mis au point un système qui permet de déposer sur la grille de téflon de la biopuce, les quatre bases désirées, grâce à des injecteurs piézo-électriques, selon une technologie qui s'apparente à une synthèse d'ADN classique. C'est l'équivalent d'une imprimante à jet d'encre à quatre couleurs (chaque couleur étant en l'occurrence une base : A, G, T, C). Ce procédé est extrêmement flexible : il permet de fabriquer indifféremment telle ou telle sorte de biopuce, de même qu'une imprimante imprime indifféremment telle ou telle page, quels que soient les mots du texte.

◆ L'hybridation : réalisation pratique

Le rôle de chaque sonde est de reconnaître, dans un mélange appliqué à la surface de la biopuce, une séquence d'ADN. Généralement cette séquence est amplifiée par PCR¹ puis marquée par fluorescence, préparée en solution et mise en contact avec la biopuce.

La phase d'hybridation est réalisée dans une sorte d'incubateur (station fluïdique) et suivie d'un lavage destiné à débarrasser la puce des cibles nucléiques non hybridées.

◆ La détection des hybridations

Elle permet de déterminer à quelle sonde s'est appariée la séquence d'ADN analysée.

Le procédé Affymetrix repose sur l'utilisation d'un scanner qui permet de repérer les sondes d'ADN devenues fluorescentes, c'est-à-dire ayant donné lieu à une hybridation. D'autres procédés sont à l'étude chez Clinical Micro Sensors (Californie) ou à l'École centrale de Lyon et se fondent sur les modifications des charges électriques du support en silicium où sont fixées les sondes (système GenFet). La mesure de ces modifications permet de repérer les associations spécifiques entre les sondes et les oligonucléotides cibles.

¹ PCR : Polymerase chain reaction ou réaction de polymérisation en chaîne. Ce procédé permet de copier en grande quantité une séquence quelconque d'ADN en un temps très bref.

1.1.3.2. Les possibilités d'utilisation

LES APPLICATIONS¹

Diagnostic	Pharmacie	Recherche	Agro-alimentaire	Environnement
Immuno-essais hormone & cancer	Criblage médicamenteux « <i>screening</i> »	Séquençage, analyse de séquences	Classification	Microbiologie
Microbiologie ADN antigènes/anticorps	Mise au point médicaments	Tri moléculaire	Contamination	Polluants
Facteurs aggravants cardio-vasculaire vieillissement	Pharmacogénomique	Vision intégrée des voies métaboliques		Plantes
Toxicologie				
Aide au suivi des essais cliniques, adaptation de la thérapie				

◆ Le séquençage par hybridation (SPH)

Alors que la méthode enzymatique dite méthode de Sanger peut être considérée comme une épellation de la séquence, c'est-à-dire une lecture base par base, le SPH procède par lecture de petits blocs. L'analyse porte sur des sous-séquences chevauchantes qui sont lues et réassemblées au moyen d'un programme informatique qui reconstitue la séquence étudiée.

Le séquençage par biopuces constitue une alternative intéressante et plus précise à la méthode classique du séquençage en terme d'automatisation et de réduction des coûts et des durées d'exécution. Cependant tous les problèmes techniques ne sont pas résolus.

◆ L'identification de cibles pour la recherche thérapeutique :

La contribution des biopuces au séquençage s'accompagne d'une aide à la compréhension plus fine du génome et de sa régulation. Ainsi, grâce aux puces à ADN, ont été mis en évidence de nouveaux gènes s'exprimant spécifiquement dans le tissu cérébral de l'enfant, ou apparaissant associés à des pathologies inflammatoires rhumatismales ou intestinales. Les biopuces devraient contribuer à l'identification de cibles thérapeutiques pour la recherche pharmaceutique. Elles serviront aussi à déterminer la résistance aux antibiotiques de certaines souches microbiennes pour permettre de mieux lutter contre celles-ci.

¹ AMIGO : Présentation générale - Février 1999. LETI/CEA.

◆ La pharmacogénomique :

La pharmacogénomique consiste à identifier les gènes impliqués dans l'efficacité (ou l'inefficacité) d'un produit, ou ses effets indésirables.

Elle conduit à une meilleure compréhension des mécanismes d'action des médicaments. En montrant qu'une molécule a sur une cible une action variable, la biopuce ouvre le champ des potentiels thérapeutiques. Elle permet aussi d'identifier les effets secondaires d'un produit et, lors des essais cliniques, de faire des mesures de toxicité.

◆ Le diagnostic des maladies infectieuses et génétiques

Ce thème est développé dans le chapitre 1.2.4.

D'un point de vue économique, il est important de noter que le marché mondial de diagnostic médical par biopuces sera en pleine expansion d'ici quelques années.

◆ En dehors du secteur médical, trois secteurs industriels non négligeables offrent des débouchés aux biopuces :

- L'agro-alimentaire : le suivi des bactéries productrices de ferments lactiques, détection des séquences provenant d'organismes génétiquement modifiés dans les semences.

- L'environnement : l'analyse bactérienne de l'eau de consommation, la détection des agents infectieux dans l'alimentation, l'air ou l'eau (*Salmonella*, *Listeria*, *Legionella*).

- La guerre bactériologique ou chimique : en déterminant par avance les modifications du fonctionnement génétique des cellules immunitaires occasionnées par des agents toxiques, on peut identifier rapidement les produits chimiques (mercure, dioxine...) ou bactériologiques (bacille du charbon ou de la diphtérie...) disséminés par un éventuel agresseur.

Les multiples possibilités d'utilisation des biopuces expliquent que la **concurrence** règne entre les entreprises de biotechnologie qui souhaitent dominer un **marché très rentable à moyen terme**.

1.1.3.3. La production des biopuces

LES ACTEURS¹

	SYNTENI	AFFYMETRIX		PROTOGENE
Méthode de fabrication	Dépôt de sondes PCR par robot à pointes	Synthèse <i>in situ</i> par photolithographie		Synthèse <i>in situ</i> par microfluidique
Nature des sondes	Sonde PCR : spécifique d'un gène	Sonde « oligonucléotide »		Sonde « oligonucléotide »
Densité	10 000 sondes/cm ²	100 000 sondes/cm ²		100-400 sondes/cm ²
Coût	\$ 4000/puce	Programme de R & D : 2,2 M\$ (1 seul design \$450/puce)		Prog. de R & D : 1,5 M\$ (500 designs \$300/puce)
Applications	Recherche Pharmacie	Recherche	Reséquençage Diagnostique	
	40 000 gènes analysés par puce	1700-7000 gènes analysés par puce	1 gène analysé par puce (BRCA1, P53, HIV)	

Comme dans bien d'autres domaines biotechnologiques, les États-Unis sont en pointe pour les puces à ADN.

La société Affymetrix reste incontournable actuellement pour plusieurs raisons :

Elle a mis au point la première puce à ADN et bénéficie d'une expérience technologique certaine ;

Elle a protégé ses différentes techniques, -notamment de dépôt de sondes sur la puce et de séquençage par hybridation- par d'innombrables brevets. Ses concurrents devront donc inévitablement la combattre², s'allier avec elle (c'est la stratégie de Bio-Mérieux) ou tenter de la contourner en utilisant des techniques différentes (c'est la solution adoptée par Protogene).

Le fait que Glaxo-Wellcome détienne 34 % du capital d'Affymetrix lui confère une réelle solidité économique.

Elle commercialise aussi les scanners de lecture automatique des biopuces (près de 700 000 F le lecteur) à ceux qui achètent ses biopuces et constituent en quelque sorte une clientèle captive.

¹ AMIGO : Présentation générale - Février 1999. LETI/CEA.

² La société Affymetrix a intenté un procès à Incyte Pharmaceuticals et à Synteni. Elle est elle-même attaquée par Hyseq pour deux de ses brevets...

Les biopuces sont aussi produites par d'autres sociétés américaines, de moindre importance mais parfois associées à de grands groupes de pharmacie ou d'instruments scientifiques : Synteni (rachetée par Incyte Pharmaceuticals à la fin de 1997) Hyseq (associée à Perkin Elmer), Molecular Dynamics, Nanogen, ...

En Europe, quelques équipes développent le procédé des puces à ADN :

- l'Institut Engelhardt de Moscou travaille avec les groupes américains Motorola et Packard Instrument, ainsi qu'avec le Laboratoire national d'Argonne (Illinois).

- Le centre allemand de cancérologie de Heidelberg collabore avec l'Université danoise de Copenhague.

- En Angleterre vient de voir le jour la société Oxford Gene Technology, qui développe une technique particulière de fixation des fragments d'ADN sur les puces.

- En France, la société CIS-Bio-International (Saclay) étudie une technologie spécifique en collaboration avec le LETI (Laboratoire d'électronique, de technologie et d'instrumentation) et le DRFMC (département de recherche fondamentale de la matière condensée) du CEA (Commissariat à l'énergie atomique) à Grenoble.

Aujourd'hui, le LETI développe un nouveau programme : AMIGO, exposé dans la deuxième partie du présent rapport.

1.1.4. LA CHIMIE COMBINATOIRE ET LE CRIBLAGE À HAUT DÉBIT

« L'apparition de nouvelles technologies a bouleversé la recherche de nouveaux médicaments dans sa phase initiale. Celle-ci inclut tout d'abord la synthèse et l'isolement de nouvelles molécules puis leur essai sur des systèmes biologiques permettant de présupposer d'un intérêt thérapeutique éventuel. Cette phase était classiquement longue et pénible. La synthèse chimique relevait d'un art difficile ; au départ, le choix d'une structure de base se faisait sans guide. Les essais sur les animaux entiers ou les organes isolés étaient longs et complexes. Au total, malgré des progrès au fil des années, le processus relevait plus de la « pêche à la ligne » que de la démarche rationnelle. Trois approches ont profondément transformé cette recherche.

1. Les techniques conformationnelles

La théorie des récepteurs postule que c'est l'union de la molécule de médicament avec une macromolécule (une protéine en général) qui est à l'origine de l'effet pharmacodynamique et plus généralement de la réponse thérapeutique. Cette union est fortement spécifique : seules quelques molécules privilégiées en sont capables. On dit que le médicament est comme « la clé dans la serrure ». On sait maintenant déterminer la conformation dans l'espace des protéines, notamment grâce à la radiocristallographie aux rayons X, donc celle des récepteurs. On peut donc prévoir quelles structures devront présenter les molécules pour pouvoir s'unir à eux. Cette recherche est aidée par les programmes informatiques qui permettent de visualiser les molécules et de les faire tourner dans l'espace (conception assistée par ordinateur).

Bien que hautement sophistiquée et évidemment plus ardue que ces quelques lignes pourraient le laisser croire, cette approche permet de ne plus s'en remettre au hasard dans la recherche des séries chimiques intéressantes. On voit, cependant, qu'il est indispensable de connaître au départ le récepteur pertinent, c'est-à-dire d'avoir une hypothèse physio-pathologique et d'avoir été capable d'identifier et d'isoler la protéine qui le porte. Là aussi, des progrès décisifs ont été faits dans l'isolement des protéines et, mieux -encore, dans le repérage et le clonage des gènes qui commandent leur synthèse.

2. La chimie combinatoire

Il est désormais possible de synthétiser en une seule opération plusieurs centaines de molécules c'est ce que l'on appelle la chimie combinatoire. On part de la structure de base déterminée a priori comme il vient d'être dit et on génère systématiquement toutes les variations possibles en greffant des radicaux chimiques, des chaînes latérales, en modifiant le squelette, etc. Ceci se fait non plus étape par étape, mais en mettant en présence les réactifs nécessaires. On obtient ainsi d'un seul coup plusieurs centaines de molécules. Toutes les opérations, synthèse, isolement et identification, sont miniaturisées et robotisées. Le gain de temps et l'abaissement des coûts sont considérables. On peut ainsi constituer une bibliothèque de plusieurs milliers de dérivés en quelques mois.

3. Le criblage à haut débit

Le problème est alors d'identifier parmi toutes ces molécules celles qui sont pourvues des propriétés biologiques les plus intéressantes. Le gain de temps et l'augmentation de la productivité apportés par la chimie combinatoire l'auraient été en vain si la productivité de cette phase de repérage appelée « criblage » n'avait pas été aussi améliorée. Aux essais longs et limités de la pharmacologie expérimentale classique, a succédé une technique qui permet d'essayer dans le minimum de temps des milliers de molécules.

Le test consiste à mettre en présence la substance à tester et un système biochimique (une enzyme par exemple) et de mesurer l'importance de la réaction éventuelle. L'essai peut être fait simultanément avec un grand nombre de systèmes, de significations très diverses. En fait, tout est miniaturisé et robotisé. Les opérations se déroulent sans intervention humaine et les résultats sont lus sur l'imprimante.

Tout dépend de ce que l'on met dans les tubes et, une fois de plus, on ne trouvera que ce que l'on cherche. C'est dire l'importance des hypothèses physiopathologiques. Les systèmes biologiques testés ne sont pas indifférents : ce sont ceux dont on pense qu'ils interviennent de manière cruciale dans le déterminisme de la maladie. On voit donc bien que cette recherche appliquée, dont les progrès sont si remarquables, est totalement tributaire de la recherche fondamentale d'amont.

L'opération finale est celle du choix. La plupart du temps, toutes les molécules intéressantes ne peuvent pas passer en développement. Il faut donc sélectionner les plus prometteuses, compte tenu de leurs résultats aux tests, mais aussi d'autres considérations comme leur facilité de synthèse ou leur pharmacocinétique. Si les opérations répétitives ont été automatisées, l'inventivité de l'esprit humain intervient donc toujours dans les choix des hypothèses, des tests et in fine des molécules. »

(1)

1.1.4.1. Chimie combinatoire et constitution de chimiothèques

La chimie combinatoire

Le principe de la chimie combinatoire est d'accroître les chances de trouver une molécule active, un candidat-médicament, en multipliant le nombre de molécule étudiées².

◆ La synthèse

C'est une sorte de jeu de construction qui permet de synthétiser de très nombreuses molécules par combinaison. Les chimistes, en cela, imitent la nature qui, à partir de quelques molécules élémentaires, a construit toute la variété des gènes et des protéines.

¹ J. DANGOUMAU, Professeur des universités, praticien hospitalier, pharmacologie.

² Cf. la thèse de Line BOUREL : « Synthèse combinatoire appliquée à la découverte de nouveaux médicaments ». Université de Lille. 1997.

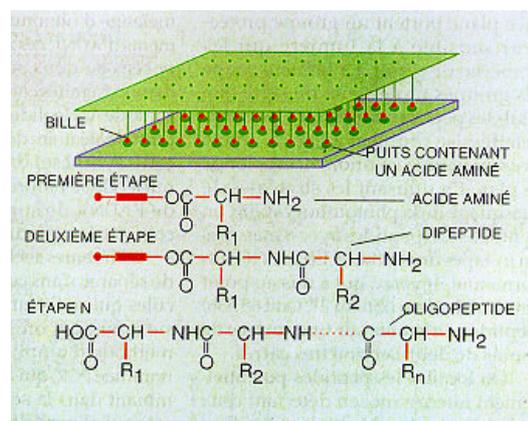
Au cours des années 1980, les immuno-chimistes cherchaient à établir la structure des fragments des protéines virales (peptides viraux) qui déclenchent les réactions du système immunitaire d'un organisme infecté par un virus. Pour synthétiser de nombreux peptides de 5 à 12 acides aminés, ils ont mis au point une méthode appelée synthèse en parallèle.

La synthèse en parallèle

Dans la synthèse en parallèle, une petite bille de polystyrène est fixée à une tige de polyéthylène ou « pin ». Chacun des puits de la plaque contient un seul acide aminé.

On plonge tous les pins dans les puits, et l'acide aminé présent dans chaque puits se greffe sur la bille immergée, par l'intermédiaire d'un « bras » (le cylindre). Puis on change les acides aminés contenus dans les puits, et les billes sont à nouveau immergées. Le nouvel acide aminé se lie au premier, formant un dipeptide. Après n étapes, on obtient un oligopeptide qui est libéré dans le puits après rupture du bras qui le liait à la bille de polystyrène.

Par cette méthode, on obtient autant de peptides différents qu'il y a de puits, et ces molécules sont formées par la succession des acides aminés qui ont été successivement introduits dans les puits.



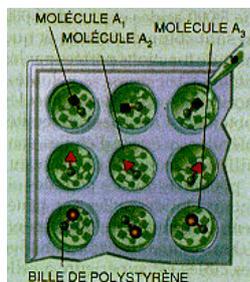
(1)

La méthode combinatoire est dérivée de cette synthèse mais elle est beaucoup plus puissante car elle produit un nombre de molécules croissant exponentiellement à chaque étape de la synthèse. Il s'agit alors d'une synthèse dite divergente ou dissociée.

¹ Pour la science, n° 241 Novembre 1997.

LES DIFFÉRENTES MÉTHODES DE SYNTHÈSE DES BANQUES COMBINATOIRES

La synthèse en parallèle divergente



Étape 1

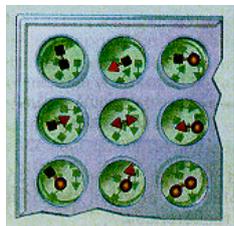
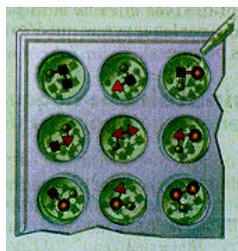
On dispose d'un jeu de trois molécules A_1 , A_2 , A_3 . Ces molécules sont fixées sur des billes de polystyrène différentes.

Étape 2

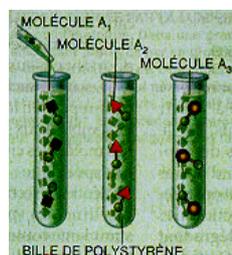
On ajoute dans chacun des puits le mélange des trois molécules A_1 , A_2 , A_3 . On obtient les molécules A_1A_1 , A_1A_2 , A_1A_3 ; A_2A_1 , A_2A_2 , A_2A_3 ; A_3A_1 , A_3A_2 , A_3A_3 (pour simplifier, on n'a représenté qu'un type de molécules par puits, mais, en réalité, les trois types de molécules sont mélangés, sur chaque ligne).

Étapes suivantes

Au bout de deux étapes, on a synthétisé 3^2 , soit neuf molécules différentes (en recommençant n fois la même opération, on obtient 3^n molécules). Toutefois, les billes portent toutes un mélange de molécules, ce qui rend l'identification de la molécule active difficile.



La synthèse par répartition et mélange



Étape 1

Des billes de polystyrène sont introduites dans les tubes à essai. Les molécules A_1 sont placées dans le premier tube, les molécules A_2 dans le deuxième, etc. On n'a représenté que trois tubes, mais on peut en utiliser des dizaines.

Étape 2

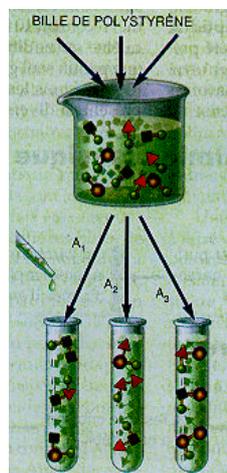
Le contenu des tubes est filtré et rincé, et toutes les billes sont regroupées et mélangées.

Étape 3

Le mélange est partagé en trois, et des molécules A_1 sont introduites dans le tube 1, des molécules A_2 dans le tube 2, etc.

Étapes suivantes

On recommence les opérations de mélange et de partage autant de fois qu'il est nécessaire pour ajouter toutes les sous-unités voulues. Une bille ne porte qu'un seul type de molécules, car, à chaque étape, les billes ne sont en contact qu'avec un seul réactif. Un test colorimétrique identifie la bille qui porte la molécule active.



MOLÉCULES
 A_1A_1 A_1A_2 A_1A_3
 A_2A_1 A_2A_2 A_2A_3
 A_3A_1 A_3A_2 A_3A_3

Ce type de synthèse a été rendu possible par le fait que B. MERRIFIELD¹ a réussi à développer des peptides sur de petites billes de polymère chimiquement inertes.

La chimie combinatoire utilise ces billes de polymère de la façon suivante : placées dans un solvant, les billes gonflent, de sorte que l'intérieur devient accessible aux réactifs dissous dans ce solvant. Chaque bille porte environ 10^{13} amorces qui se combinent avec les réactifs. Par réactions successives on obtient des oligomères, des molécules constituées d'un enchaînement de plusieurs sous-unités.

◆ Le marquage des molécules

La seconde étape consiste à « étiqueter » les molécules au fur et à mesure de leur élaboration, de façon à pouvoir identifier chacune d'elles à la fin du processus. Plusieurs techniques sont utilisées :

- La première est l'ajout, à chaque stade de la synthèse, d'un composé inerte sur un site distinct de la bille ; cela crée une sorte de signature chimique de la molécule ;

- La seconde est l'ajout, à chaque stade également, d'une base (A, T, G ou C) qui permettra ultérieurement de reconnaître la molécule en lisant la séquence après amplification par PCR (*polymerase chain reaction*) ;

- La société française CEREP utilise des codes barres pour assurer la traçabilité des produits. « *Chaque opération, chaque produit est référencé. L'ordinateur lit les codes et permet au chimiste d'accéder directement aux informations qu'il recherche ou au robot de savoir quels échantillons il traite* ». ²

- La société californienne Irori a lancé, en juin 1996, le système Accutag : il s'agit de développer des molécules sur des billes contenues dans une capsule où se trouve également un microprocesseur. La paroi de chaque capsule est comme un filet qui laisse passer les réactifs chimiques nécessaires à la synthèse, mais retient les billes de polymère.

À chaque étape de la synthèse, un signal radio est envoyé à chaque microprocesseur afin d'enregistrer en détail la réaction à laquelle la bille est exposée. Ces données peuvent ensuite être lues sur les microprocesseurs lorsque les molécules en sont arrivées à leur stade final.

¹ B. MERRIFIELD a reçu pour ces travaux le prix Nobel de chimie en 1984.

² André TARTAR. Directeur de la CEREP. L'Usine nouvelle. Hors série. Novembre 1998.

Toutefois, le système électronique utilisé reste trop volumineux pour permettre de produire des centaines de milliers de composés.

C'est pourquoi, Irori a signé des accords avec Rhône-Poulenc Rorer et Bristol-Myers Squibb pour mettre au point un nouveau procédé qui devrait, à terme, permettre de synthétiser près de 25 000 composés par semaine. L'idée est d'utiliser des étiquettes code à barres à deux dimensions et à lecture optique au lieu du système des étiquettes à radiofréquence c'est-à-dire des « volumineux » microprocesseurs contenus dans la capsule.

Les nouvelles molécules créées par la chimie combinatoire sont rassemblées dans de vastes chimiothèques. Les chimiothèques « généralistes » fournissent une grande diversité de structures moléculaires. Toutefois, ces molécules sont d'un intérêt inégal et il est indispensable de les trier pour déterminer les plus actives et quel type de cible elles peuvent atteindre.

**UNE NOUVELLE FAÇON DE CRÉER DES MOLÉCULES INÉDITES :
LES MOLÉCULES DARWINIENNES**

« Faisant appel aux principes de la sélection naturelle, un logiciel engendre des molécules-modèles inédites, futures candidates au statut de médicament.

Plusieurs modèles chimiques permettent déjà de trouver informatiquement de nouvelles molécules actives. Le dernier logiciel en date propose d'appliquer la sélection naturelle darwinienne sur des modèles de molécules. Les résultats de David NOEVER lui ont valu le titre d'innovator de l'année 1998, décerné par le magazine américain Discover. Grâce à cette idée, David NOEVER a fondé une start-up qui travaille notamment avec le National Cancer Institute (NCI) et une dizaine d'entreprises privées. Son logiciel part d'une molécule fournie par un laboratoire, connue pour son action sur certaines maladies. Il en construit ensuite jusqu'à trente « parents », des molécules élaborées automatiquement selon des critères géométriques, physico-chimiques ou autres.

A chaque molécule est associé un « Chromosome » fictif représentant ses caractéristiques. L'algorithme déclenche alors un processus de reproduction sur cette population de chromosomes, en autorisant les mutations (changement ponctuel et aléatoire) et les cross-over (échange d'une séquence entre deux chromosomes). À chaque génération, le logiciel choisit les meilleurs reproducteurs, par exemple les molécules ayant la configuration de plus basse énergie. En calculant quelques milliers de générations, on voit apparaître de nouvelles molécules, parmi lesquelles seules les meilleures « survivent ». David NOEVER précise que, « lors des expériences réalisées pour le National Cancer Institute, les experts du NCI ont toujours vérifié que les molécules proposées n'avaient jamais été observées auparavant ». En jouant sur les paramètres de sélection, NOEVER peut aussi modéliser la fixation de ligands sur une protéine, ou encore prédire la forme exacte d'une molécule d'après sa formule chimique, en un temps record: quelques minutes sur une station de travail. »

La Recherche. N° 313. Octobre 1998.

1.1.4.2. Le criblage à haut débit

Les laboratoires pharmaceutiques ont tout intérêt à restreindre leur champ d'investigation expérimentale en le ciblant correctement pour aboutir à de nouveaux médicaments le plus vite possible à un moindre coût. C'est pourquoi ils passent au crible les nouvelles molécules ; ce criblage doit être réalisé à haut débit.

◆ Le criblage virtuel

Cette technique relativement récente est notamment mise en œuvre par la société Syntem. L'ordinateur aide le biochimiste à faire le tri parmi les molécules. « *Par une évaluation rationnelle de l'activité biologique des molécules, on peut diminuer le nombre de molécules à synthétiser en laboratoire d'un facteur mille ou plus* »¹. Puis les nouvelles molécules sont modélisées : leurs propriétés globales (exemple : affinité pour les graisses, solubilité...) sont analysées et ces descriptions sont communiquées à l'ordinateur qui réalise un premier tri, permettant de sélectionner les molécules qui, compte tenu de ces propriétés, ont le plus de chance d'être actives en fonction de telle ou telle cible.

◆ Le criblage biologique

C'est actuellement le procédé le plus utilisé. Il consiste à identifier les molécules actives par mise en contact avec la cible biologique. Ces cibles peuvent par exemple être des protéines dont on a identifié expérimentalement l'implication dans tel ou tel processus pathologique.

Jusqu'au début des années 1990, les essais traditionnels en éprouvette permettaient à une personne de tester 2000 composés par an. L'emploi de microplaques à 96 puits a ensuite permis de réaliser 6 000 essais par jour et par robot sur une même cible. Aujourd'hui les microplaques comportent 384 puits, certaines pouvant aller jusqu'à 1 536 puits. Ces progrès ont permis de multiplier les tests et, également, de réduire les coûts car les essais sont « miniaturisés » et utilisent des volumes d'échantillons très réduits.

Le criblage à haut débit se caractérise par l'utilisation de robots capables de gérer simultanément de grands nombres de microplaques, facilement manipulables et stockables, où sont effectués des milliers de tests par jour.

Le criblage à haut débit est issu des progrès de la robotique. Il repose sur des systèmes capables de réaliser des tâches séquentielles indépendantes telles que dilution, pipettage et répartition de composés dans des cupules ou

¹ Michel KACZOREK. *Président de Syntem. L'Usine Nouvelle. Hors série. Novembre 1998.*

puits, agitation, incubation, lecture de résultats. Ils sont pilotés par des logiciels spécifiquement adaptés au type d'analyse à réaliser. Les essais sont effectués dans des microplaques standards identifiées par un code à barres et manipulées par la « main » d'un robot : celle-ci prend la plaque vide, ajoute les réactifs nécessaires et les composés à tester, gère le temps de la réaction puis passe la plaque à un lecteur pour connaître le résultat. Pour visualiser les réactions issues de la mise en contact, dans les puits, de la molécule et de la cible, on utilise des méthodes basées sur la radioactivité ou, bien souvent, la fluorescence. Ces résultats sont stockés et analysés grâce à des ordinateurs.

1.2. DE MULTIPLES APPLICATIONS

La génomique, la bioinformatique, les biopuces et la chimie combinatoire vont offrir des possibilités thérapeutiques remarquables selon des approches très diverses : la sélection de cibles d'intérêt pour la mise au point de médicaments traditionnels, la thérapie génique, les vaccins, la pharmacogénomiques, le diagnostic moléculaire et la production de protéines thérapeutiques.

1.2.1. L'UTILISATION POUR LA RECHERCHE PHARMACEUTIQUE DES CIBLES ISSUES DE LA GÉNOMIQUE

L'efficacité d'un criblage est directement liée à la pertinence de la cible choisie. On comprend aisément, que tester les réactions de milliers de molécules sur des produits biologiques non impliqués dans des processus pathogènes n'offre aucun intérêt. Le choix des cibles est donc essentiel et l'apport de la génomique est considérable. La génomique permet de mieux connaître les bases moléculaires des maladies.

1.2.1.1. La connaissance du génome humain

Les informations issues de l'analyse systématique du génome humain vont permettre d'identifier les gènes liés à certaines maladies et leur fonction biologique via leurs produits : les protéines.

« Les gènes deviennent la voie royale pour découvrir des médicaments : connaître la séquence d'un gène, en déduire la structure de la protéine qu'il code, c'est identifier autant de cibles biologiques, autant de sites d'interventions sur lesquelles ces médicaments pourront agir.

Sur les milliers de maladies connues, seules une centaine (au plus 150) représentent un enjeu majeur de santé publique et nécessitent un traitement (ou une amélioration du traitement). La majorité de ces maladies, comme le cancer, l'hypertension, l'athérosclérose ou certains (troubles mentaux, ont un déterminisme génétique multifactoriel.

En estimant que le nombre de gènes impliqués dans de telles maladies oscille entre 5 et 10 (ce qui est généralement admis), on voit que le nombre de gènes liés à une pathologie se situe entre 500 et 1 000. Si l'on considère que ces gènes et leurs produits interagissent avec 3 à 10 autres produits, qui sont autant de sites d'intervention potentiels, on aboutit à un total de 3 000 à 10 000 cibles d'intérêt pour des médicaments. Or, c'est précisément le nombre de sites moléculaires qui sont susceptibles, d'ici six ans, d'émerger du décryptage du génome humain !

Autrement dit, c'est par au moins un facteur 10 que l'on peut espérer pouvoir, en quelques années, multiplier le nombre de cibles actuellement exploitées (417 seulement, rappelons-le)! Sans compter que la plupart des cibles fournies par la génomique (comme des récepteurs nucléaires, l'ADN ou les canaux ioniques) sont peu explorées aujourd'hui dans le processus de mise au point des médicaments. »¹

La création de cibles issues de la génomique passe généralement par la création d'ADN complémentaires (ADNc). En effet, les ARN messagers (ARNm), ces copies d'ADN, porteuses de l'information nécessaire pour fabriquer les protéines correspondant aux gènes, pourraient être analysés et conservés pour fournir en temps utile des protéines cibles. Mais ce sont des molécules très fragiles. On utilise une astuce technique : à partir des ARNm, on synthétise, en jouant sur la complémentarité des bases nucléotidiques des ADN complémentaires (ADNc), copies stables des ARNm, offrant l'intérêt majeur de pouvoir être stockées, copiées et séquencées.

Ces ADN permettent, lorsque l'on veut effectuer un criblage précis, de produire les protéines codées par les gènes correspondants, afin de tester les molécules : il s'agit principalement de protéines spécifiques comme des enzymes et des récepteurs, cibles privilégiés pour la recherche pharmaceutique.

1.2.1.2. La connaissance des génomes bactériens

La connaissance des génomes bactériens permet également de cribler des familles de molécules de type antibactérien et des vaccins.

Un exemple de cibles potentielles pour de nouveaux antibactériens permettant de contourner les phénomènes de résistance aux antibiotiques : le blocage du processus de réplication de l'ADN bactérien, déduit de la connaissance du génome d'*Escherichia coli*.

*« Autre piste, le processus de réplication de l'ADN bactérien offre aussi des cibles intéressantes. Chez *Escherichia coli*, par exemple, plus de trente protéines sont impliquées dans la réplication de l'ADN. La mutation des gènes codant ces protéines entraîne généralement un blocage de la réplication, suivi d'un arrêt de la croissance et souvent de la mort bactérienne. D'autre part, la machinerie de réplication est similaire chez la plupart des bactéries. De ce fait, un inhibiteur de la réplication a toutes les chances d'avoir un spectre d'activité large. A l'heure actuelle une famille d'antibactériens, les quinolones, a pour cible les topo-isomérases, enzymes impliquées dans les changements de conformation de l'ADN. Mais on connaît maintenant une vingtaine d'enzymes (polymérase III holo-enzyme et ses sous unités, ou encore DnaA, DnaB et DnaC...) qui*

¹ « Une nouvelle stratégie de recherche ». Synthélabo.

interviennent dans la phase initiale de réplication de l'ADN : ce sont autant de cibles potentielles pour de nouveaux agents antibactérien. »¹

Depuis le premier séquençage d'un génome bactérien, celui d'*Haemophilus influenzae* en 1995, de nombreux autres ont été totalement séquencés ou vont l'être prochainement. Certains chercheurs estiment que les génomes de la majorité des bactéries pathogènes pour l'homme seront séquencés au début des années 2000. Il est certain qu'un génome bactérien correctement reconstitué et annoté apporte de nouvelles cibles permettant le criblage, soit de nouveaux produits antibactériens, soit de vaccins (ainsi que cela est exposé au chapitre 1.2.3., notamment en ce qui concerne les génomes d'*Helicobacter Pylori* et de *Mycobacterium tuberculosis*).

¹ « Quels antibactériens pour demain ? », J.-F. DESNOTTES. La Recherche n° 314. Novembre 1998.

1.2.2. LA THÉRAPIE GÉNIQUE

La thérapie génique est la fille de la génomique, qui en est l'indispensable préalable.

1.2.2.1. Origine et application de la thérapie génique

◆ Le défi de la thérapie génique est de parvenir à corriger, à l'intérieur des cellules d'un organisme humain, les anomalies qui, en affectant son génome, sont responsables de pathologies graves et, le plus souvent, actuellement incurables.

L'objectif est d'atteindre et de supprimer la cause de la maladie et de ne plus se contenter d'atténuer ou d'effacer les symptômes.

« La thérapie génique est l'insertion délibérée de matériel génétique dans l'organisme d'un patient pour corriger un défaut précis à l'origine d'une pathologie, que ce soit à titre curatif ou préventif »¹.

Cette définition inclut à la fois la thérapie du gène (réparation de gènes dont l'altération est responsable de maladies), objectif qui prévalait pour les maladies génétiques en 1983, après la mise au point des premiers vecteurs, et l'utilisation de gènes comme nouveaux types de médicament.

À l'origine, la cible la plus logique de la thérapie génique a paru être le domaine des maladies monogéniques héréditaires : pour ces affections, on était certain que les personnes porteuses d'un gène sain ne développeraient pas la maladie. Par ailleurs, on connaissait précisément les gènes responsables de nombreuses maladies génétiques grâce à l'action menée notamment par l'Association française contre les myopathies. Mais les champs d'application de la thérapie génique se sont ensuite diversifiés.

◆ Le principe de cette thérapie, est d'introduire un gène-médicament à l'intérieur de la cellule cible afin de :

- corriger une maladie génétique en introduisant dans les cellules malades un gène-médicament faisant défaut ;

- inhiber ou stimuler la synthèse d'une protéine donnée.

¹ Rapport de l'OTA (Office of Technology Assessment). 1984.

Il existe trois méthodes de thérapie génique :

- La thérapie génique *ex vivo* consiste à prélever sur le patient les cellules cibles, à les modifier génétiquement avec le vecteur viral porteur du gène thérapeutique puis à les réintroduire chez le patient.

Cette méthode est utilisée en particulier pour les cellules sanguines qui sont faciles à prélever et à réintroduire.

- La thérapie génique *in situ* consiste à placer directement au sein du tissu cible le vecteur de transfert. Cette technique est expérimentée, notamment, dans les cas de mucoviscidose (transfert de vecteurs dans la trachée et les bronches), de cancer (injection dans la tumeur d'un vecteur portant le gène d'une toxine, par exemple), ou de dystrophie musculaire (injection dans le muscle d'un vecteur porteur du gène de la dystrophine) ;

- La thérapie génique *in vivo* consiste à injecter le vecteur portant le gène thérapeutique directement dans la circulation sanguine ; le vecteur est alors censé atteindre spécifiquement les cellules cibles.

1.2.2.2. Les obstacles techniques

La thérapie génique suppose nécessairement :

- un gène-médicament ;
- un vecteur pour le transporter ;
- une cellule cible où le gène puisse s'exprimer.

Aujourd'hui, l'évolution de la thérapie génique repose essentiellement sur le développement des systèmes de transfert des gènes : ils doivent être sûrs, efficaces, capables d'exercer leur fonction dans des cellules qui ne se divisent pas et d'assurer la stabilité de l'expression du gène thérapeutique.

◆ Les principaux types de vecteurs

Les virus ont la capacité de franchir, dans certaines conditions, les barrières de protection que dresse le corps humain en cas d'introduction d'ADN étranger dans son génome. Ils sont capables d'introduire leur matériel génétique dans les cellules qu'ils infectent. C'est pourquoi les chercheurs ont eu l'idée de les utiliser pour transférer les gènes thérapeutiques dans les cellules des patients.

Bien entendu, les virus utilisés ne doivent présenter aucun danger : on transforme donc génétiquement les virus en ôtant, dans leur propre génome, les séquences nécessaires à leur répllication et leur virulence (les gènes E 1 et E 4). Différents types de virus sont utilisés comme vecteurs :

- **Les rétrovirus** ont été les premiers virus testés. Leur qualité principale est de pouvoir intégrer leur matériel génétique de façon permanente dans le génome des cellules qu'ils infectent. Actuellement, 60 % des protocoles cliniques sont fondés sur l'utilisation de vecteurs rétroviraux, dérivés des rétrovirus de la leucémie murine (MLV, virus de Moloney en particulier). Ils peuvent contenir un ADN exogène de taille relativement grande : huit kilobases¹. À l'exception du VIH (virus de l'immunodéficience humaine), ces virus ont évolué sous des formes peu pathogènes et leur utilisation présente des risques limités.

Ils sont utilisés selon la technique *ex vivo*. La pénétration des rétrovirus dans les cellules cibles se fait grâce à la reconnaissance, par un récepteur cellulaire, d'une protéine présente sur l'enveloppe virale. Mais, pour être efficace, c'est-à-dire pour s'intégrer dans le chromosome cellulaire, le vecteur ne peut se contenter d'être entré dans le cytoplasme de la cellule : il doit pénétrer jusqu'au noyau de la cellule. Ce n'est possible qu'au moment où la cellule se divise pour se reproduire (mitose), car la membrane du noyau est alors momentanément rompue. Cette particularité explique que l'on doive utiliser la technique *in vivo* car, lorsque l'on cultive, en laboratoire, les cellules humaines, la plupart d'entre elles sont réceptives aux rétrovirus MLV et se divisent activement lors de l'exposition aux rétrovirus qui peuvent ainsi pénétrer dans leurs noyaux.

Mais l'approche *ex vivo* a ses limites. Les cellules sanguines qui pourraient être ainsi traitées, car elles sont faciles à prélever et à réintroduire dans l'organisme, sont malheureusement peu réceptives au MLV : elles expriment peu le récepteur à ce virus, qui pénètre donc difficilement en elles.

L'utilisation des rétrovirus *in vivo* est encore plus délicate :

- Les vecteurs doivent atteindre principalement les cellules cibles ; or, les cellules endothéliales expriment naturellement un récepteur au MLV ; de ce fait, les rétrovirus modifiés peuvent pénétrer dans ces cellules rencontrées sur le chemin qui doit les mener aux cellules cibles. Dans la mesure où les vecteurs rétroviraux ne peuvent pas être produits à des concentrations élevées, le fait qu'ils se fixent partout dans la circulation sanguine les empêche de parvenir en quantité suffisante pour une transduction² efficace dans les cellules cibles.

- La plupart des cellules considérées comme des cibles potentielles pour une thérapie génique ne prolifèrent pas activement *in vivo*. Les rétrovirus ne

¹ La kilobase (kb) est une unité de taille correspondant à 1000 paires de bases d'ADN. La taille moyenne d'un gène est de 1 à 2 kb.

² La transduction est le transfert de séquences d'ADN entre différents génomes par l'intermédiaire d'un virus.

peuvent profiter de la mitose pour s'introduire dans leur noyau. La solution de l'avenir sera peut-être l'utilisation des lentivirus, (tel que le VIH) qui sont capables de pénétrer dans le noyau des cellules ne se divisant pas. Le risque principal présenté par ces virus est une éventuelle recombinaison entre le génome viral et le génome des cellules transduites, susceptible de produire un virus pathogène.

C'est pourquoi les recherches portent sur des systèmes hybrides incluant le génome modifié du VIH (débarrassé des gènes responsables du caractère pathogène du virus) dans un vecteur rétroviral. Cette méthode paraît intéressante mais n'en est qu'à ses balbutiements.

- **Les adénovirus** ont des caractéristiques intéressantes : leur grande taille permet le transfert de très larges séquences d'ADN (plus de 35 kb) ; ils sont capables d'infecter un grand nombre de types de cellules différentes, même si elles ne sont pas en phase de mitose ; ils peuvent être produits à des concentrations élevées. Ils ont aussi des défauts, notamment celui de provoquer de fortes réactions inflammatoires et immunitaires. C'est pourquoi les vecteurs adénoviraux de deuxième génération contiennent des génomes réduits des virus. On doit toutefois noter qu'ôter des séquences des génomes viraux présente des inconvénients : ainsi, il peut être nocif de retirer les séquences correspondant à des régions dites « activatrices » qui aident à maintenir la stabilité du génome viral dans la cellule.

Aujourd'hui, pour lutter contre ces réactions, l'utilisation des vecteurs adénoviraux suppose d'administrer des gènes viraux contenant des gènes immunosuppresseurs. Une autre solution consisterait à administrer un traitement « classique » de produits immunodépresseurs au patient parallèlement au traitement par thérapie génique. Parvenir à supprimer les réactions immunitaires est essentiel car les vecteurs adénoviraux ne s'intègrent pas dans le génome de la cellule cible et ont tendance à disparaître au fil des divisions cellulaires. Il faut pouvoir les administrer de façons répétées sans déclencher de réaction immunitaire.

- **Les adéno-associated virus (AAV)** sont des virus non pathogènes très répandus chez l'homme. Ils ne peuvent se répliquer qu'en s'associant avec des adénovirus ou des virus de l'herpès. Ils peuvent transduire efficacement les cellules du cerveau, du foie et certaines cellules sanguines. Ils peuvent infecter des cellules en dehors des phases de mitoses. Malheureusement cette qualité essentielle disparaît lorsque l'on modifie le génome des AAV pour y introduire le gène-médicament : les vecteurs restent capables d'infecter des cellules ne proliférant pas mais ne s'intègrent plus dans leur génome. Par ailleurs, les AAV présentent un autre inconvénient : celui de ne pouvoir contenir que des petites séquences d'ADN (4,8 kb).

Ces AAV pourront donner des vecteurs peu dangereux et présentant certains avantages mais ils sont actuellement inexploitable dans le domaine clinique.

- **Les vecteurs synthétiques** ont plusieurs qualités : facilement produits, ils sont stables et peuvent contenir des séquences d'ADN de grande taille. Ce sont des lipides, des peptides ou des polymères dits cationiques car ils sont porteurs d'une charge électrique positive. Celle-ci leur permet de compacter les milliers de paires de bases d'une molécule d'ADN (chargées négativement) et de donner une charge positive à l'ensemble (vecteur + ADN) qui peut interagir avec les charges négatives des membranes des cellules.

La pénétration *in vitro* des vecteurs synthétiques dans les cellules ne pose pas de problèmes ; malheureusement les résultats *in vivo* sont très décevants. Il semble que, injectés par voie intraveineuse, les vecteurs s'agrègent en particules de grande taille mécaniquement retenues par les deux principaux filtres du corps humain (poumon et foie).

Compte tenu de ces difficultés, l'une des utilisations envisagée à terme, pour les vecteurs synthétiques est le traitement de la mucoviscidose par instillation du gène-médicament dans les poumons (dans ce cas, il suffirait semble-t-il d'atteindre 5 % des cellules pulmonaires) :

Les défauts actuels des vecteurs synthétiques pourraient être corrigés au prix d'importants efforts de recherche dans le domaine de la chimie et de la biochimie. Or l'industrie pharmaceutique est prête à valoriser son savoir-faire traditionnel en chimie en étudiant de près les vecteurs synthétiques. Les retombées en seraient positives pour les groupes pharmaceutiques et pour la thérapie génique.

VECTEURS	CARACTÉRISTIQUES	TAILLE DE L'INSERT	VOIX D'ADMINISTRATION	INDICATIONS CLINIQUES	COMMENTAIRES
Adénovirus	<ul style="list-style-type: none"> - Efficace (vecteur de référence) - Expression prolongée - Production facile - Pas d'intégration 	≤ 10-14 kb	<ul style="list-style-type: none"> - intratrachéale - intra-artérielle/intraveineuse - intratumorale 	<ul style="list-style-type: none"> - Oncologie - Cardio-vasculaire - Maladie SNC 	<ul style="list-style-type: none"> - Production industrielle OK - Aspects réglementaires OK - Problèmes potentiels pour réadministrations fréquentes
Adeno Associated Virus (AAV)	<ul style="list-style-type: none"> - Efficacité modérée - Expression prolongée - Intégration - Production délicate 	≤ 4,5 kb	<ul style="list-style-type: none"> - intratrachéale - intratumorale - intramusculaire 	<ul style="list-style-type: none"> - Oncologie 	<ul style="list-style-type: none"> - Production industrielle difficile - Aspects réglementaires : +/- - Problèmes potentiels pour réadministrations fréquentes
Rétrovirus	<ul style="list-style-type: none"> - Efficacité modérée - Intégration aléatoire - Production facile - Cellules en division 	≤ 4-6 kb	<ul style="list-style-type: none"> - <i>ex vivo</i> - intraveineuse 	<ul style="list-style-type: none"> - Oncologie - Maladies génétiques 	<ul style="list-style-type: none"> - Production industrielle : OK - Aspects réglementaires : +/-
Vecteurs synthétiques	<ul style="list-style-type: none"> - Efficacité modérée/limitée - Expression transitoire - Pas d'intégration - Production facile (en théorie) 	illimitée (en théorie)	<ul style="list-style-type: none"> - intramusculaire - intraveineuse/intra-artérielle 	<ul style="list-style-type: none"> - Maladies génétiques - Protéines circulantes - Oncologie 	<ul style="list-style-type: none"> - Production industrielle : +/- - Aspects réglementaires : +/-
Pox Virus	<ul style="list-style-type: none"> - Efficaces - Expression cytoplasmique - Production facile 	≤ 20 kb	<ul style="list-style-type: none"> - intramusculaire 	<ul style="list-style-type: none"> - Immunothérapie (cancers et infectieux) 	<ul style="list-style-type: none"> - Production industrielle : OK - Aspects réglementaires : OK
Vecteurs cellulaires	<ul style="list-style-type: none"> - Efficaces - Expression transitoire - Production facile 	≤ 30 kb	<ul style="list-style-type: none"> - intramusculaire ou intratumorale 	<ul style="list-style-type: none"> - Immunothérapie (cancers) 	<ul style="list-style-type: none"> - Production industrielle : OK - Aspects réglementaires : OK - Problèmes potentiels de stabilité pharmaceutique

Source : Transgène

◆ L'expression des gènes

Si le problème de l'efficacité du transfert du gène-médicament par des vecteurs est résolu à terme, il conviendra d'obtenir du gène une expression durable et au bon niveau.

L'intérêt de la thérapie génique, du moins telle qu'elle était conçue à l'origine, est en effet de traiter la cause de la maladie et non seulement ses symptômes : apporter dans l'organisme du patient des gènes destinés à compenser le dysfonctionnement de certains gènes ou leur absence n'est efficace que si le gène de remplacement exerce réellement ses fonctions, c'est-à-dire s'il exprime les protéines indispensables à la santé du patient.

Ce problème est loin d'être résolu

• Une expression stable et à un bon niveau

Plusieurs facteurs empêchent le maintien de l'expression des gènes après leur transfert :

- les séquences régulatrices¹ contrôlant l'expression du gène thérapeutique sont souvent reconnues comme étrangères et inactivées par la cellule qui les reçoit ;

- si l'efficacité du gène-médicament n'est pas atteinte, c'est alors la cellule « d'accueil », celle qui a reçu le gène, qui est détruite par le système immunitaire du patient, ce système reconnaissant et éliminant les produits de gènes étrangers et les cellules qui les expriment.

• Une expression régulable

Si les problèmes précédents sont résolus, il faudra obtenir une expression régulable du gène. En effet, plusieurs gènes importants, tel que celui par exemple qui permet la production d'insuline, ne s'expriment pas au même taux en continu mais répondent à des signaux physiologiques. Il faudrait donc que les séquences génétiques insérées puissent répondre aux signaux physiologiques du corps et fonctionnent comme les autres gènes de l'organisme. Devant la complexité de ce problème une autre possibilité est envisagée : utiliser des substances chimiques administrées de façon traditionnelle et permettant de contrôler le niveau d'activité du gène.

Cette combinaison du gène-médicament et du produit pharmaceutique classique est étudiée avec intérêt par l'industrie pharmaceutique : cela lui permettrait d'exercer un certain contrôle sur le marché de la thérapie génique.

¹ Séquences situées avant ou après le gène proprement dit sur le filament d'ADN et impliquées dans l'efficacité de la production des protéines.

Des recherches sont déjà en cours : ainsi, les chercheurs de l'Institut de thérapie génique de l'Université de Pennsylvanie, associés à ceux de la société Ariad Pharmaceuticals ont conçu une approche dans laquelle un vecteur biologique (virus) est utilisé pour délivrer aux patients des gènes thérapeutiques ayant une particularité intéressante : ils sont inactivés au départ et les patients doivent ingérer une pilule composée de produits chimiques pour déclencher leur expression.

Pour conclure, on peut noter que :

- si la vectorologie progresse, la thérapie génique *ex vivo* permettra vraisemblablement, d'ici quelques années, d'améliorer la situation clinique des patients. En revanche, la thérapie génique *in vivo* semble beaucoup plus difficile à mettre en œuvre ;

- compte tenu des problèmes de contrôle à long terme de l'expression des gènes-médicaments, une réorientation des finalités de la thérapie génique est en cours.

1.2.2.3. La réorientation des applications de la thérapie génique

« Il existe autant de thérapies géniques que de maladies à traiter, chaque type de tissu comportant des problèmes particuliers. Le fait de traiter une maladie acquise ou d'essayer de corriger une maladie héréditaire implique des problèmes de nature très différente »¹. Les maladies héréditaires monogéniques, les maladies acquises et les vaccins ont des horizons thérapeutiques très différents.

◆ Les maladies héréditaires

Leur horizon thérapeutique est lointain. La seule solution, en matière de thérapie génique est d'introduire une bonne version du gène déficient, ou de moduler l'expression de certains gènes. Or, ainsi que l'a montré le paragraphe précédent, les techniques actuelles ne permettent pas de contourner les réactions inflammatoires ou immunitaires ni d'obtenir une expression stable et persistante du gène.

Les maladies héréditaires monogéniques sont régies par deux grands mécanismes l'un de perte, l'autre de gain de fonction.

En cas de perte de fonction, la carence fonctionnelle d'un gène aboutit à un déficit (tel est le cas, par exemple, de l'hémophilie ou de la mucoviscidose) ; la stratégie consiste alors à le remplacer par un gène en état de fonctionner.

¹ Pr Alain FISCHER.

Lorsqu'il y a gain de fonction (drépanocytose, chorée de Huntington, polykystose rénale héréditaire), les symptômes de la maladie sont liés à la synthèse d'une protéine anormale à effets délétères sous la direction du gène muté ; l'apport d'un gène fonctionnel ne suffit pas à avoir des effets thérapeutiques ; il faut inhiber le fonctionnement du gène muté ou inactiver son produit protéique.

Lorsqu'un effet thérapeutique peut être espéré par la production dans la circulation d'une substance très active, par exemple une hormone, une cytokine ou un facteur de coagulation, un certain optimisme est raisonnable, même si les difficultés ne sont pas toutes résolues.

En revanche, lorsqu'il s'agit de faire pénétrer un gène fonctionnel dans un très grand nombre de cellules affectées et si une expression prolongée du gène thérapeutique est nécessaire, on ne peut être optimiste, du moins à court et moyen terme.

Ces difficultés ne condamnent nullement les recherches. Cette solution serait particulièrement mal venue en France, compte tenu des efforts humains, scientifiques et financiers des associations de malades telles que l'Association française contre les myopathies (AFM).

« Chaque jour apporte un lot de nouvelles découvertes. Partout dans le monde, des chercheurs contribuent à leur développement. Après le cancer, les essais cliniques débutent pour les maladies génétiques. Même si tout est loin d'être résolu, et que des questions importantes sont encore sans réponse, nous y croyons plus que jamais. Parce que nous savons que de la masse critique de connaissances accumulées grâce à nos efforts au cours des dernières années, doivent émerger de nouvelles idées, de nouveaux concepts qui permettront de lever les derniers obstacles à la mise au point de traitements. »¹

Dans un premier temps, la thérapie génique progressera plutôt, dans le domaine des maladies acquises.

◆ **Les maladies acquises**

Les maladies aiguës nécessitent des vecteurs efficaces qui transfèrent de fortes quantités de gènes n'ayant pas obligatoirement une expression prolongée. On peut noter par ailleurs que les réactions inflammatoires liées à l'emploi de certains vecteurs sont de moindre importance dans la mesure où les gènes-médicaments ne sont pas destinés à être administrés de façon régulière et continue.

¹ AFM. Chronique des mille jours de la thérapie génique. N° 6. Novembre 1998.

- **Le cancer** est une cible majeure de la thérapie génique. L'oncologie mobilise aujourd'hui la majorité des essais cliniques. Une grande variété d'approches sont actuellement expérimentées :

- La technique du gène-suicide : on transfère dans des cellules (généralement des lymphocytes) le gène d'une enzyme, la thymidine-kinase (TK), du virus de l'herpès (HSV). Ces cellules génétiquement modifiées sont injectées dans la tumeur maligne. Le « gène-suicide », c'est-à-dire le fragment d'informations génétiques issu du virus de l'herpès, s'introduit au sein des cellules malignes. Les médecins administrent alors au patient un médicament qui n'est actif qu'en présence d'affections virales herpétiques (Cymevan ou Ganciclovir). Ce médicament provoque la destruction sélective des cellules tumorales.

- **La lutte contre l'angiogenèse :**

La capacité, pour une tumeur cancéreuse, de grossir et de métastaser est étroitement liée à la prolifération des nouveaux vaisseaux sanguins qu'elle induit. Ce phénomène, appelé angiogenèse, permet la transformation d'un petit amas de cellules anormales en une grosse masse pouvant se disséminer dans tout l'organisme.

Bloquer l'angiogenèse est un bon moyen de lutter contre les tumeurs. Cela peut être réalisé grâce à l'angiostatine, une protéine existant naturellement dans le corps. On peut notamment citer, dans ce domaine, les travaux d'une équipe franco-américaine¹ qui a mis au point une technique de thérapie génique pour fabriquer deux anti-angiogénèses : l'angiostatine et l'endostatine et leur permettre d'agir efficacement ; les gènes qui codent pour la protéine inhibitrice de l'angiogenèse sont introduits dans un rétrovirus puis transférés dans des cellules souches de moelles osseuses cultivées *in vitro* qui sont ensuite transplantées dans l'organisme. Cette technique semble toutefois plus efficace à l'heure actuelle chez la souris que chez l'homme.

- **L'immunothérapie** est également un moyen de lutte contre le cancer. Cette technique sera étudiée dans le chapitre consacré aux nouveaux vaccins.

- **La destruction spécifique des cellules tumorales** peut également être envisagée grâce à des produits cytotoxiques. On utilise alors la brièveté d'expression du gène comme un atout ce qui, dans le cas d'autres thérapies géniques appliquées à des maladies héréditaires chroniques, est un handicap.

¹ Dr. LÉBOULCH (Harvard Medical School, Massachusetts) et Dr. BACHELOT (Centre Léon Bérard, Lyon).

Certains vecteurs cellulaires mis au point par la Société Transgène ont une expression brève et une forte efficacité. Il s'agit de cellules dites « vero », provenant d'un rein de singe ; elles ont la capacité de « sur-exprimer » le gène-médicament avant d'être détruites rapidement. D'où leur intérêt, par exemple, pour stimuler la fabrication d'un cytotoxique comme l'interleukine II, au niveau d'une tumeur, sans risque d'affecter, à cause d'une expression trop durable du gène, les autres cellules de l'organisme.

• **Le gène P 53.** Cette thérapie est actuellement en phase III des essais cliniques¹ ; elle semble assez efficace notamment contre le cancer de la sphère ORL appelé aussi cancer « tête et cou ». On envisage d'associer le traitement à une chimiothérapie ou une radiothérapie.

Il s'agit d'une injection dans les tumeurs cancéreuses du gène suppresseur de tumeurs, P 53, surnommé « gardien du génome ». Ce gène est naturellement présent dans les cellules. Lorsque des mutations surviennent, il fait en sorte qu'elles soient aussitôt réparées. Si les dégâts sont trop importants, il amorce le programme d'autodestruction de la cellule. Malheureusement, ce gène est lui-même parfois victime d'une mutation et n'effectue plus son travail. La cellule est alors livrée à elle-même et risque, à tout moment, de dériver vers la cancérisation. La moitié des cancers portent la marque de ce défaut. La thérapie génique permet de compenser cette mutation en introduisant un exemplaire actif du gène dans les cellules cancéreuses pour réactiver les mécanismes de correction ou d'autodestruction. Des essais cliniques de thérapies génique, avec le gène P 53, sont actuellement conduits sur des cancers aussi variés que le cancer du poumon, du sein, de l'ovaire, de la prostate, du cerveau..., mais ils en sont encore à des phases précoces.

En tout état de cause, même si la thérapie génique peut offrir, à terme, des opportunités pour le traitement des cancers, il faut rester très prudent et garder à l'esprit le récent abandon, par le groupe Novartis, des recherches sur le glioblastome (cancer du cerveau). Celles-ci avaient atteint la phase III des essais cliniques et les Drs David KLATZMANN et Jean-Loup SALZMANN avaient constaté des pourcentages de rémission jamais atteints par un autre traitement. Toutefois, l'essai de phase III, mené en aveugle (patients et médecins ignorant qui prend le médicament ou le placebo) a donné des résultats trop peu significatifs pour que Novartis envisage une commercialisation.

- **Les maladies cardiovasculaires** pourraient aussi bénéficier de thérapies géniques. On évalue en particulier les possibilités de stimuler la repousse de vaisseaux sanguins par transfert de gènes de facteurs de croissance des cellules endothéliales vasculaires (VEGF). Une maladie vasculaire

¹ Société Gencell RPR.

avancée peut en effet déboucher sur la survenue d'ischémie dans les extrémités des membres ; on pourrait remédier à celle-ci par l'injection directe de vecteurs exprimant le VEGF permettant ainsi d'accroître l'apport sanguin dans les territoires atteints.

Dans ce cas encore, la limitation dans le temps de l'expression de gène n'est pas un handicap car il suffit que celle-ci dure un mois pour que les vaisseaux repoussent. Selon le Dr. LEBOULCH, l'efficacité de cette technique peut être accrue si l'on injecte directement les vecteurs dans les zones ischémiques à l'aide d'un cathéter spécial.

« La stratégie consistant à faire développer de nouveaux vaisseaux sanguins (ou angiogénèse) pour pallier l'obstruction des artères est une situation relativement accessible à une thérapie génique car il n'est ici pas nécessaire ni même souhaitable d'obtenir une expression prolongée des gènes thérapeutiques. En effet une expression prolongée des gènes induirait probablement la formation de nouveaux vaisseaux sanguins dans d'autres régions de l'organisme, ce qui pourrait conduire à la formation de tumeurs.

Les scientifiques de l'Université de Cornell à New-York, (US) financés par Gen Vec ont injecté le gène codant le VEGF (un facteur de croissance des vaisseaux sanguins) directement dans le muscle cardiaque tout en réalisant une opération de pontage. Les résultats de ces essais viennent d'être rendus publics. Ils sont extrêmement encourageants. De leur côté les chercheurs de Collateral Therapeutics ont utilisé le gène codant le facteur de croissance des fibroblastes. Ils prévoient d'administrer le gène-médicament par un cathéter dans les artères coronaires des patients. Les essais cliniques de phase I/II doivent débiter au cours du premier trimestre 1998. Sous réserve d'un succès, des essais de phase III pourraient démarrer dès l'année prochaine ce qui signifie que le produit pourrait être commercialisé dans trois ans. Les essais menés par Gen Vec devraient concerner une dizaine de patients avec un calendrier relativement similaire à celui de Collateral Therapeutics. Les deux approches, utilisant des vecteurs adénoviraux, ont probablement chacune leurs avantages et leurs inconvénients. Par exemple, la technique d'administration de Collateral Therapeutics semble d'emblée plus simple et moins invasive. En revanche, il est possible que l'approche de Gen Vec permette de conserver le gène au site où il doit s'exprimer. D'autres sociétés ont déjà démarré des essais utilisant le même type de gènes pour traiter des troubles vasculaires périphériques (autres que cardiaques). »¹

¹ Chronique des mille jours de la thérapie génique. N° 3 mars 1998 ; AFM.

- Les autres pathologies :

D'autres voies thérapeutiques actuellement à l'étude visent les maladies infectieuses comme le SIDA et l'hépatite B, les affections articulaires inflammatoires, la maladie d'Alzheimer et la sclérose en plaques.

Dans le domaine du SIDA, de nombreux projets existent mais beaucoup se heurtent à deux problèmes : les difficultés de transfert des gènes et le peu de modèles animaux.

◆ Les maladies sensibles aux protéines thérapeutiques

Certaines maladies peuvent être traitées par la sécrétion dans l'organisme d'une protéine « manquante ».

Cette protéine peut être l'érythropoïétine, qui favorise la production des globules rouges ou, dans le cadre de maladies lysosomiales, l'enzyme déficiente susceptible d'être captée par les cellules de l'organisme. Dans le diabète insulino-dépendant, il faut fournir à l'organisme de l'insuline en quantité suffisante.

D'autres protéines dont l'insuffisance provoque des maladies graves peuvent être produites *in situ* par l'organisme : la facteur VIII, l'urokinase, la calcitonine (maladie de Paget). On peut alors parler de protéines de troisième génération, la première génération étant celle des protéines purifiées et la deuxième celle des protéines recombinantes.

« Avec la thérapie génique, le gène devient un possible médicament. La thérapie génique pourra s'appliquer, évidemment, à des maladies génétiques, et, plus généralement, à toutes les affections, héréditaires ou acquises, qui peuvent bénéficier du traitement par une protéine thérapeutique. En effet, il est, en principe, toujours possible de remplacer un médicament protéique par le gène qui va en commander la synthèse dans les propres cellules du malade qu'il faut soigner. En ce sens, la thérapie génique constitue la troisième étape de l'utilisation des protéines médicamenteuses. La première est celle de la purification à partir de tissus ou de fluides animaux ou humains ; la seconde est le génie génétique, où l'on asservit des micro-organismes à produire le médicament protéique en leur transférant le gène correspondant ; la thérapie génique, enfin, transfère directement l'ADN dans l'organisme qu'il faut soigner, des cellules de celui-ci devenant des microfabriques du médicament et des microsystèmes de sa délivrance au malade. »¹

¹ « Thérapie génique : thérapie du gène et gène médicament ». Axel KAHN.

Ainsi, la firme américaine Chiron a récemment lancé des essais de thérapie génique susceptible de traiter les personnes atteintes d'hémophilie A. Ces essais visent à vérifier les possibilités d'injection, par voie intraveineuse, de gènes codant pour la production directe par l'organisme d'un facteur sanguin précis : le facteur VIII.

De même, la société Avigen a déposé un brevet relatif au traitement de l'anémie par l'injection, par l'intermédiaire du vecteur viral AAV, du gène codant pour l'EPO (erythropoïétine).

◆ La thérapie génique associée

Cette approche thérapeutique semble très intéressante. C'est la combinaison de la thérapie génique et d'un traitement médical ou chirurgical classique. On peut citer quelques exemples :

- Lors des greffes de moelle osseuse, on est amené à injecter au patient des lymphocytes du donneur de moelle ce qui présente l'inconvénient d'exposer le patient à un risque de maladie de greffon contre l'hôte qui peut être très grave.

L'une des parades possibles est de prélever des lymphocytes du donneur et d'y transférer un gène-suicide (enzyme TK du virus de l'herpès, comme dans le cas des tumeurs cancéreuses) avant de les injecter au patient greffé. Si ces lymphocytes entraînent effectivement une réaction sévère du greffon contre le receveur, on peut administrer à ce dernier une molécule comme le Ganciclovir. Les lymphocytes modifiés, rendus sensibles à cette substance seront détruits.

- Les cellules cancéreuses résiduelles peuvent également être détruites :

Lors de traitements de cancers par chimiothérapie, l'on envisage souvent des greffes autologues de cellules sanguines (à l'origine des défenses immunitaires). Dans ce cas, on réinjecte au patient ses propres cellules, qu'elles aient ou non été modifiées ; souvent il peut rester des cellules cancéreuses dans les populations cellulaires sanguines que le patient reçoit. Une équipe américaine (université de Yale) vient de mettre au point un système de thérapie génique par gène suicide permettant de se débarrasser des cellules cancéreuses résiduelles.

- La thérapie génique peut également protéger les patients des effets négatifs de la chimiothérapie anticancéreuse.

Une des limitations de la chimiothérapie est l'excessive toxicité des molécules utilisées s'exerçant notamment vis-à-vis des cellules sanguines et conduisant à une immunodépression sévère. Des stratégies de thérapie génique

proposées reposent sur le transfert chez le malade de gènes protecteurs dans les cellules à l'origine des lignées sanguines et présentes dans la moelle osseuse. Dans ce type de méthodes, le transfert de gène est d'abord entrepris sur des cultures de cellules de moelle osseuse du malade (ex vivo), et les cellules modifiées sont ensuite ré-injectées au patient. Celui-ci peut alors recevoir sans risque un traitement chimiothérapeutique intensif.

1.2.2.4. Le point sur la thérapie génique

◆ Les maladies concernées par la thérapie génique

TÊTE	Cécité :	- thérapie génique pour neutraliser un gène déficient.
	Maladie de Parkinson :	- ralentissement de la mort des neurones et stimulation de leur repousse.
MUSCLES	Myopathie de Duchenne (1 naissance/ 3000) :	- injection du gène de l'utrophine pour rétablir la liaison muscle-cerveau.
	Dégénérescence musculaire due au vieillissement :	- injection d'un facteur de croissance des muscles (IGF-1).
SANG	Diabète insulino-dépendant :	- restitution d'une enzyme impliquée dans la synthèse du glycogène et de l'insuline.
	Hypercholestérolémie familiale :	- mécanisme de fixation du cholestérol déficient.
	Anémie (déficit dans le transport d'oxygène) :	- injection d'un facteur de croissance des muscles (IGF-1).
	Hémophilie A (1 naissance/5000) et B (1 naissance/50000) - défaut de coagulation du sang :	- injection dans les muscles ou le foie du gène manquant.
	Intolérance au lactose (sucre présent dans le lait) :	- introduction du gène codant pour la galactosidase. 50 % de la population mondiale touchée.
POUMONS	Mucoviscidose (1 naissance/2000, espérance de vie, environ 20 ans) - affection des poumons :	- transfert du gène CFTR par voie orale.
COLONNE VERTÉBRALE	Sclérose latérale amyotrophique (paralysie progressive) :	- on injecte un facteur de croissance des neurones ou un gène pour stopper la mort des neurones.
CŒUR ET ARTÈRES	Maladies cardiovasculaires :	- revascularisation autour des veines obturées.
SYSTÈME IMMUNITAIRE	Maladie chronique granulomateuse (défaut de la lutte anti-infectieuse qui provoque infections sévères pluriviscérales) :	- on introduit le gène codant pour l'enzyme NADPH oxydase.
	Maladies infectieuses : SIDA, paludisme, hépatite B, herpès, tuberculose, grippe, athérosclérose :	- système de vaccination ADN.
CANCERS	Cerveau, ORL, prostate, reins, peau, sein, poumon, leucémie :	- certains gènes injectés poussent les tumeurs à s'autodétruire, d'autres les asphyxient ou les empêchent de migrer, ou encore stimulent le système immunitaire contre elles.

Source : L'Usine nouvelle - Hors série - Mars 1999.

◆ **Les essais cliniques en cours¹**

PAYS	PROTOCOLES		PATIENTS	
	Nombre	%	Nombre	%
Amérique	277	75,5	2210	71,5
- dont États-Unis :	270		2162	
Europe	70	19,1	510	16,5
- dont France :	14		87	
Asie	10	2,7	29	0,9
Autres	10	2,7	369	11,1
Total :	367	100	3118	100

PHASE	PROTOCOLES	PATIENTS
I	241	1463
I / II	92	857
II	32	520
III	2	249
Total :	367	3089

	PROTOCOLES	PATIENTS
Cancer	230	2099
Cardiovasculaires	11	39
Maladies infectieuses	29	405
Maladies génétiques	53	286
Maladies auto-immunes	5	28
Autres	39	232
Total :	367	3089

◆ **Marché et industrie de la thérapie génique**

- Alors que, en 1997, le marché de la thérapie génique de 2010 était estimé à 3,2 milliards d'euros (selon la Business Communications Company), en 1998, les estimations étaient passées à 41 milliards d'euros vers 2010 (estimation de la Federal Trade Commission).

¹ Source : www.wiley/genetherapy.com. *Transgène février 1999.*

- Les grands groupes pharmaceutiques impliqués sont : Rhône-Poulenc Rorer et Hoechst Marion Roussel (Aventis), Schering-Plough, Novartis, Glaxo Wellcome et, depuis peu, Roche.

- La thérapie génique en France¹ :

Les laboratoires :

CNRS

INSERM

Généthon : *association financée par le Généthon, entièrement consacrée à la recherche et à la production de vecteurs de thérapie génique*

Les entreprises :

Gencell RPR *avec un centre de production à Vitry*

Transgène *avec un centre de production à Strasbourg*

Génopoïétic *avec un centre de production à Lyon*

Les principaux centres de traitement :

Hôpital Pitié-Salpêtrière

Hôpital Necker

Institut Gustave-Roussy

Institut Curie

Centre hospitalier de Nantes

Centre Léon-Bérard de Lyon

Centre hospitalier de Lyon-Sud

Hôpital Debrousse, Lyon

Établissement de transfusion sanguine de Besançon

Institut Curie (*Institut Calmette, à Marseille*)

CHU de Nantes

¹ Source : *L'Usine nouvelle - Hors série - Mars 1999.*

LES TRÈS RÉCENTS PROGRÈS DE LA THÉRAPIE GÉNIQUE

1. La réparation des gènes¹

À côté de l'approche classique de la thérapie génique, qui consiste à introduire dans l'organisme une « copie » correcte d'un gène dysfonctionnel, une nouvelle technique vient d'apparaître : la réparation *in situ* des gènes mutés. Elle serait efficace dans le cas de maladies provoquées par des mutations génétiques ponctuelles, c'est-à-dire lorsqu'une seule base incorrecte est responsable de la production défectueuse d'une protéine. Parmi les pathologies notables causées par la mutation d'une seule base figure notamment l'anémie falciforme.

Les nucléotides employés pour la réparation génétique sont des « chimères » c'est-à-dire des molécules constituées non plus d'ADN mais d'ARN-ADN.

Les résultats obtenus *in vivo* sont très encourageants et méritent d'être confirmés.

2. L'électroporation *in vivo* pour l'injection d'ADN nu : Améliorer le transfert du gène grâce à des impulsions électriques²

La génétique et l'électricité n'ont au départ aucun point commun et n'avaient jusqu'à présent pas mêlé leurs applications. Aujourd'hui, deux équipes de chercheurs français du CNRS dirigées respectivement par Luis MIR (Institut Gustave Roussy, Villejuif) et Daniel SCHERMAN (unité mixte CNRS-Rhône-Poulenc Rorer Vector Development) rapportent que l'électricité pourrait jouer un rôle de stimulant dans le cadre de thérapies géniques en améliorant le fonctionnement des gènes injectés. Au cours de leurs expériences, les scientifiques sont parvenus à « *introduire durablement un gène dans les muscles de souris en obtenant, sous l'action d'impulsions électriques, une efficacité au moins cent fois supérieure à la simple injection d'ADN* ».

Un tel résultat est prometteur car cette technique appliquée aux muscles pourrait, par exemple, permettre de traiter des myopathies ou encore d'obtenir une sécrétion d'hormones. « *Les impulsions électriques rendent perméables les cellules, elles ouvrent la porte des cellules pour y faire entrer le produit choisi* », explique Luis MIR.

3. Suivre le chemin des gènes³

« *Il est désormais possible de visualiser in vivo le cheminement de brins d'ADN grâce à la tomographie à émission de positons.*

C'est une avancée méthodologique importante pour le développement de la thérapie génique.

La fabrication d'une nouvelle molécule aux effets physiologiques prouvés ne suffit pas à la promouvoir au rang de médicament.

À cet effet, de multiples expérimentations sont nécessaires. Entre autres, il faut pouvoir suivre son trajet sinueux à l'intérieur du corps d'un animal, puis d'un homme -un des obstacles auquel se heurte le développement de la thérapie génique.

¹ « Targeted gene correction : a new strategy for molecular medicine ». S. YE, A. COLE-STRAUSS, B. FRANK, E. KMIEC. Molecular Medicine Today. Oct. 1998.

² Afp, 15 novembre 1998 - Comptes-rendus de l'Académie des Sciences.

³ Note de presse : CEA-INSERM - 30 mars 1998.

L'unité INSERM U 334 et le Service Hospitalier Frédéric Joliot de la Direction Sciences du Vivant du CEA à Orsay, ainsi que le Service de pharmacologie et d'immunologie (CEA/Saclay) viennent de relever le défi.

En utilisant une technique d'imagerie médicale, la tomographie à émission de positons (TEP), ils visualisent, dans un organisme vivant, le cheminement d'oligonucléotides, ces brins d'ADN ou d'ARN sur lesquels reposent les espoirs de la thérapie génique.

Utilisée en recherche fondamentale et en pharmacologie, la TEP permet la localisation corporelle d'une molécule marquée par un radio-isotope. On peut alors mettre en évidence des fonctions, observer les dégâts causés par un accident vasculaire grâce à la mesure du débit sanguin cérébral ou encore localiser des tumeurs en visualisant la forte consommation de glucose par des cellules cancéreuses...

Dans leur étude, publiée dans Nature Medicine, les chercheurs se sont intéressés aux oligonucléotides, molécules qui agissent au sein des cellules. Selon leur nature, les oligonucléotides permettent à certaines cellules malades de synthétiser une protéine dont elles sont dépourvues, ou ils s'opposent à l'action d'une protéine défectueuse, soit en empêchant sa fabrication, soit en perturbant son fonctionnement.

Actuellement, il est possible de vérifier le chemin emprunté par ces molécules à l'intérieur d'un organisme, mais uniquement chez des animaux de laboratoire et par des méthodes longues et laborieuses. La nouvelle technique permet de réduire le temps nécessaire à ces études de manière considérable : une fois les oligonucléotides radiomarqués, les chercheurs peuvent suivre leur trajet dans un organisme vivant en quelques heures seulement. Ils ont directement accès à une image de tous les organes, ce qui limite le recours à l'expérimentation animale. Non invasive et sensible, cette technique pourrait être applicable à l'homme. »

1.2.3. LES NOUVEAUX VACCINS

1.2.3.1. L'immunothérapie génique

Le principe de l'immunothérapie utilisée contre les tumeurs est de stimuler le système immunitaire afin de s'opposer à la croissance des cellules cancéreuses.

Les tumeurs se développent généralement à partir de cellules dans lesquelles s'accumulent des anomalies actuellement identifiées concernant des gènes codant pour des protéines impliqués dans la différenciation, la prolifération cellulaire ou le contrôle du cycle.

Certaines de ces protéines sont des facteurs de croissance comme le *fibroblast growth factor* (FGF), des récepteurs comme Her-2/neu, des tyrosine-kinases comme abelson (ABL), des facteurs de transcription comme myc ou des suppresseurs de tumeurs comme la protéine codée par le gène P 53.

La surexpression de protéines normales ou la production de protéines anormales peuvent conduire à une présentation antigénique de ces produits à la surface des cellules tumorales ; elles peuvent alors être reconnues par le système immunitaire.

« L'utilisation de cellules dendritiques¹, préalablement incubées avec les protéines ou les peptides tumoraux, ou dans lesquelles auront été introduits les gènes codant les peptides est particulièrement prometteuse.

Des cellules tumorales modifiées par les gènes codant la molécule B 7 ou des cytokines comme le GM-CSF (granocyte macrophage colony stimulating factor) ou l'IL 2 (interleukine 2) pourraient être également injectées aux patients.

La GM-CSF sécrétée peut activer et recruter des cellules présentant l'antigène tandis que la présence de la molécule B 7 et de l'IL 2 peut stimuler les réponses lymphocytaires. Enfin, il serait possible de restaurer la présentation des antigènes tumoraux en injectant aux patients de l'ADN codant des antigènes tumoraux ou encore les molécules HLA (human leucocyte antigen) ».²

¹ Les cellules dendritiques sont des cellules spécialisées dans la présentation d'antigènes.

² « Immunité antitumorale et perspectives d'immunothérapie ». Marina OSTANKOVITCH, Agnès BUZYN, Sacha GNJATIC, Jeannine CHOPPIN, Jean-Gérard GUILLET (Laboratoire d'immunologie des pathologies infectieuses et tumorales. INSERM, U 445. Médecine thérapeutique. Vol 3. n° 9. Novembre 1997.

1.2.3.2. La vaccination génique

Il s'agit d'une vaccination à base d'ADN « nu ». Les vaccins à ADN sont le résultat d'une découverte fortuite. En 1988, une équipe de chercheurs de l'Université du Wisconsin en collaboration avec la société Vical travaillait sur la pénétration de l'ADN de plasmide dans les cellules, dans un but de thérapie génique. À leur grande surprise, de l'ADN « nu » (qui n'est inclus dans aucun organisme) simplement injecté en solution saline dans les cellules musculaires, s'est montré capable de s'exprimer, produisant les protéines correspondantes, mais sans s'intégrer au génome humain. C'est sur cette capacité que repose le principe de la vaccination à ADN.

Elle consiste à introduire dans l'organisme animal ou humain une partie du matériel génétique de l'agent pathogène. Dans le cas du matériel génétique du virus contre lequel on recherche l'immunisation, on prélève la fraction d'ADN codant pour la protéine susceptible de déclencher une réaction immunitaire protectrice (antigène). On l'introduit ensuite dans un plasmide (fragment d'ADN circulaire) que l'on fait se multiplier dans des bactéries. Après extraction et purification, celui-ci est introduit dans l'organisme où il est capable de pénétrer dans les cellules. L'ADN du pathogène s'exprime alors dans le noyau des cellules. Il y a production d'antigène ; celui-ci est présenté au système immunitaire et déclenche une réponse. L'antigène viral provoque une double réponse immunitaire. D'une part, la production d'anticorps capables, lors d'une infection, de reconnaître spécifiquement cet antigène sur le virus ; d'autre part, l'apparition de lymphocyte T cytotoxiques (CTL) dont le rôle est de détruire les cellules infectées par le virus.

Cette technique peut théoriquement permettre de vacciner contre toutes les maladies infectieuses.

Les avantages de la vaccination à ADN sont multiples :

- la réponse immunitaire provoquée est de longue durée ;
- il n'y pas de risque d'infection par un agent adventice puisque le vaccin est composé d'ADN. Il n'y pas d'effets secondaires ;
- le vaccin peut être « multicible » : on peut réaliser des « cocktails » de vaccins où plusieurs gènes, codant pour des protéines de différents pathogènes seraient introduits en même temps, ce qui rendrait inutiles des injections multiples. Certains vaccins « multicibles » existent actuellement (DT polio, par exemple) mais d'autres sont irréalisables à cause d'incompatibilités entre les préparations ;

- le vaccin à ADN est chimiquement défini et thermiquement stable ce qui réduit la nécessité de maintenir la chaîne du froid ;

- sa préparation est standardisée : le procédé reste le même quelle que soit la maladie. Seul change le fragment d'ADN du pathogène à cloner dans le plasmide. D'où une économie d'échelle pour la fabrication et des coûts moindres.

Chez l'animal, les vaccins à ADN ont donné des résultats probants pour un grand nombre de maladies, notamment la grippe chez les primates, le paludisme, le VIH chez la souris.

Toutefois, en l'état actuel des choses, plusieurs problèmes se posent :

- si le plasmide étranger s'intègre à l'ADN de la cellule hôte en certains endroits, on ne peut écarter l'hypothèse qu'il active un oncogène, gène déclencheur de cancer ou, à l'inverse, inhibe l'action d'un gène suppresseur du cancer. Même si ce risque semble très théorique aux chercheurs, il doit être très rigoureusement évalué ;

- les connaissances des mécanismes entrant en jeu lorsqu'on injecte l'ADN doivent être approfondies. En effet, si l'on a la preuve que le plasmide pénètre bien dans le noyau des cellules musculaires, puisque la protéine produite est retrouvée à l'intérieur de ces mêmes cellules, on ne sait pas encore très bien comment le système immunitaire prend connaissance de sa présence.

Normalement, la réaction du système immunitaire est provoquée par la « présentation » de l'antigène par des cellules spécialisées. Celles-ci incorporent les substances étrangères qui pénètrent dans l'organisme et en montrent des fragments à leur surface pour informer le reste du système. Cette présentation nécessite l'intervention de molécules dites de classe I et II du complexe majeur d'histocompatibilité. Or, leur présence à la surface des cellules musculaires est loin d'être établie. Il se pourrait que la présentation de l'antigène soit réalisée par les cellules de Langerhans situées, entre autres, dans la peau. L'efficacité du « pistolet à gènes »¹ qui, projette l'ADN vers le derme, est en faveur de cette hypothèse.

- Il faut également améliorer les formes d'administration des vaccins à ADN par voie nasale et orale. En effet, une bonne immunité au niveau des muqueuses est indispensable pour se défendre, par exemple, contre le VIH. Or il n'est pas évident qu'une injection dans le muscle puisse déclencher une réponse au niveau de l'estomac, de l'intestin, des voies respiratoires, de l'appareil génital, etc.

¹ *Le pistolet à gènes ou « gene gun » est un appareil permettant de faire pénétrer, à l'intérieur des cellules, l'ADN fixé sur des microparticules d'or.*

Le vaccin contre la grippe prouve qu'il est possible d'avoir une bonne protection contre une maladie respiratoire, via, probablement des anticorps transportés par le sang jusqu'au site d'infection. Mais dans la majorité des cas, la réponse risque de ne pas être optimale : l'encapsulation de l'ADN, au moyen, par exemple de liposomes, permettant son administration par voie nasale ou orale et facilitant sa pénétration au niveau des muqueuses doit être perfectionnée. Il ne s'agirait plus alors d'ADN vraiment nu.

- Si les résultats obtenus sur les animaux sont probants, l'efficacité du vaccin à ADN chez l'homme n'est pas encore prouvée.

En 1998, des résultats ont été publiés pour cinq essais cliniques :

- paludisme (US Navy/Vical/Pasteur Mérieux Connaught) ;
- grippe (Merk) ;
- HBV (Glaxo Welcome /PowderJect)
- HIV (David Weiner / Apollon)
- HIV (Britta Wahren).

Les chercheurs ont conclu à la bonne tolérance des vaccins à ADN et à une réponse immunitaire jugée « satisfaisante ».

Les premiers essais cliniques de phase II, pour la grippe et le paludisme pourraient débuter l'année prochaine.

Ils devraient permettre une meilleure évaluation de l'efficacité des vaccins à ADN ainsi que des doses à administrer à l'homme pour que l'immunisation soit suffisante (si cette quantité est trop importante, la vaccination à ADN risquerait en effet de ne pas être économiquement envisageable).

LE DERNIER ÉTAT DES RECHERCHES

Une équipe de recherche regroupant notamment des chercheurs du National Marine Research Center, du Centre de Recherche Médical sur les Maladies Infectieuses de l'Armée de Terre américaine, de la firme américaine Vical et de Pasteur Mérieux Connaught (groupe Rhône-Poulenc), publie dans la revue Science du 16 octobre 98 les résultats des essais d'un nouveau vaccin à ADN nu contre le **paludisme** (ou encore **malaria**). Ces essais ont été menés sur des sujets sains et portent sur l'innocuité et l'immunogénicité, c'est-à-dire la réponse immune des lymphocytes T cytotoxiques (CTL) « *Killer* ».

Le terme de vaccin à ADN ne fait référence à l'administration des plasmides eux-mêmes. Selon l'article publié, la plupart des 20 sujets vaccinés avec ce vaccin à ADN contre le paludisme ont développé une réponse de variabilité du dosage des CTL. En se fondant sûr ces résultats prometteurs, les chercheurs étudient actuellement l'action préventive de ce vaccin.

Ces corecherches ont pour objectif le développement d'un vaccin à ADN avec pour modèle le paludisme, qui est une maladie infectieuse touchant de nombreux soldats de l'Armée de Terre américains. C'est la première fois que l'on publie les effets d'un vaccin du paludisme sur des sujets sains. De son côté, Vical entre dans les phases I et II de développement, notamment de « Allovectin 7 » « Leuvectin » un vaccin à base de complexes ADN-lipides adaptés aux **cellules cancéreuses** ou encore de Vaxid, un vaccin à ADN à de type plasmide. Pour sa part, Pasteur Mérieux Connaught a acquis la licence sur la commercialisation de vaccins à ADN pour certaines **maladies infectieuses**, et qui sont développés par Vical.

Source : Vigie Médecine Pharmacie. N° 39 février 1999.

LES TESTS DES VACCINS À ADN¹

Ce tableau répertorie certains des tests cliniques qui évaluent l'innocuité et l'efficacité immunitaire des vaccins à ADN. Tous les vaccins testés ont été bien tolérés, et les déterminations d'efficacité sont en cours.

Objectif	Protéines codées par les gènes	Résultats
- Prévention de l'hépatite B	- Antigène de surface de l'hépatite B	- Réactions humorales et cellulaire
- Prévention de l'herpès	- Glycoprotéine de l'herpès	- Analyses immunologiques en cours
- Prévention du SIDA	- Protéines de l'enveloppe et de régulation, ou protéines de la capsidie et enzymes de réplication	- Réactions cellulaires (l'ensemble des gènes sera probablement testé dans un seul vaccin)
- Prévention de la grippe	- Hémagglutinine	- Analyses immunologiques en cours (l'essai est terminé)
- Prévention du paludisme	- Protéine d'une des formes du parasite	- Réactions cellulaires

¹ Pour la Science. N° 263. Septembre 1999.

- Thérapie du SIDA	- Protéines de l'enveloppe et régulatrices, ou protéines TAT, NEF et régulatrices	- Réactions humorales dans le premier essai. Réactions cellulaires dans un autre essai.
- Thérapie du SIDA	- Protéines de l'enveloppe, régulatrices et de la capsid, et enzymes impliquées dans la réplication du VIH	- Ce vaccin a été associé à une trithérapie, analyses immunologiques en cours
- Thérapie des adénocarcinomes du sein et de l'intestin	- Antigène carcino-embryonnaire	- Réactions cellulaires
- Thérapie des lymphomes des lymphocytes B	- Immunoglobuline	- Réactions humorales
- Thérapie des lymphomes cutanés des lymphocytes T	- Récepteur de lymphocyte T	- Analyses immunologiques en cours (l'essai est terminé)
- Thérapie du cancer de la prostate	- Antigène spécifique de la membrane prostatique	- Analyses immunologiques en cours

1.2.3.3. L'utilisation de la connaissance du génome pour la découverte de nouveaux vaccins « traditionnels »

Les progrès pouvant être réalisés dans la découverte de nouveaux vaccins sont liés à la connaissance progressive du génome (c'est-à-dire de l'ensemble des gènes) des bactéries et, bientôt, des parasites.

Cette connaissance permet d'identifier les composantes les plus pertinentes pour un vaccin, c'est-à-dire celles qui entraînent une réponse immunitaire.

L'identification des gènes d'une bactérie a pour corollaire la connaissance des protéines codées par ces gènes. Or ces protéines constituent des antigènes¹ potentiels qu'il convient de tester.

¹ On appelle antigène toute molécule capable d'être reconnue par le système immunitaire et de provoquer une réponse de ce système.

La connaissance du génome a donné aux chercheurs la possibilité de fabriquer les multiples protéines d'une bactérie, un gène constituant en quelque sorte la recette de confection d'une protéine.

Les chercheurs produisent les protéines d'une bactérie qui, en qualité d'antigènes potentiels, sont considérés comme d'éventuels candidats vaccins.

Si l'une de ces protéines est un antigène d'intérêt, elle déclenche, lors de son injection dans un organisme, une réponse immunitaire protectrice ; cet organisme, sera, à l'avenir, immunisé contre l'infection dont est responsable la bactérie.

On peut donner deux exemples très récents de l'utilisation de la connaissance des génomes des bactéries pour la mise au point de vaccins.

◆ L'ulcère de l'estomac

En juillet 1997, a été publiée la séquence complète du génome de *Helicobacter pylori*, bactérie responsable des ulcères de l'estomac. Cette découverte a fourni des informations globales sur les possibles facteurs de virulence, le métabolisme de la bactérie, l'organisation du génome. Elle a surtout fourni des outils de recherche très intéressants pour l'identification des protéines codées par les gènes de *Helicobacter Pylori*, en particulier de celles permettant à la bactérie de survivre, se multiplier et s'implanter au niveau de la muqueuse gastrique. Elle a également permis la mise en place par les industriels (Astra et Pasteur-Mérieux-Connaught/OraVax) de stratégies d'envergure visant à identifier de façon systématique des antigènes protecteurs et des cibles thérapeutiques d'intérêt.

La recherche d'antigènes protecteurs est passée par l'identification des protéines spécifiques à *Helicobacter pylori* qui sont des antigènes potentiels.

Les gènes ont été amplifiés par PCR (*polymerase chain reaction*), clonés et introduits dans des souches bactériennes. Ces bactéries ont produit des protéines qui ont été purifiées et dont le pouvoir « protecteur » a été testé chez la souris¹.

Ayant travaillé sur l'implantation de *Helicobacter pylori* au niveau de la muqueuse gastrique, la société Astra a annoncé que les premiers tests de vaccin contre l'ulcère de l'estomac sur des volontaires commenceraient dans les mois à venir. Le vaccin mis au point stimulerait le système immunitaire pour qu'il crée des anticorps empêchant les bactéries *Helicobacter pylori* de se

¹ « Qu'apporte la connaissance du génome de *Helicobacter Pylori* ? » Agnès LABIGNE, Peter JENKS, Véronique MAZARIN, Marie-Josée QUENTIN-MILLET. La lettre de l'infectiologue. 1998.

fixer dans la muqueuse de l'estomac. Pasteur-Mérieux-Connaught/OraVax a déjà réalisé des essais de phase I/II.

◆ La tuberculose

Des scientifiques de l'Institut Pasteur ont récemment identifié un gène de virulence du bacille de la tuberculose. L'inactivation de ce gène atténue le pouvoir pathogène du bacille.¹

Malgré les médicaments existants et la vaccination par le BCG, la tuberculose continue ses ravages. L'incidence de la maladie augmente à la fois dans les pays en développement et dans les pays industrialisés. Au cours des dix prochaines années, on estime que 90 millions d'adultes seront touchés par la maladie. L'apparition de souches résistantes aux antibiotiques et l'association de *Mycobacterium tuberculosis* avec le VIH font de cette maladie en recrudescence un problème majeur de santé publique.

La tuberculose est due à des bactéries de la famille des mycobactéries : *Mycobacterium tuberculosis*, *Mycobacterium bovis* et *Mycobacterium africanum*. La virulence de ces agents, c'est-à-dire leur pathogénicité, dépend de leur capacité à se multiplier chez l'hôte.

À l'Institut Pasteur, l'unité de Génétique mycobactérienne dirigée par Brigitte GICQUEL, cherche notamment à identifier les facteurs de virulence du bacille de la tuberculose. Si l'on inactive ces gènes, on pourra espérer obtenir un nouveau vaccin vivant atténué. Si le BCG permet de diminuer le nombre de nouveaux cas, s'il empêche les formes graves de la maladie chez les jeunes enfants, l'immunité conférée par le vaccin diminue progressivement après une dizaine d'années.

La connaissance récemment acquise du génome de *Mycobacterium tuberculosis* a permis l'identification d'un gène de virulence de ce bacille : il s'agit du gène *erp*, codant une protéine de la surface nécessaire à la multiplication du bacille dans les cellules hôtes. Des souches « mutantes » de *Mycobacterium tuberculosis* et de la souche vaccinale *Mycobacterium bovis* BCG chez lesquelles le gène *erp* a été inactivé ont été construites. Les résultats montrent que l'inactivation du gène *erp*, en supprimant la production de la protéine de surface, atténue considérablement la multiplication de *Mycobacterium tuberculosis* et de *Mycobacterium bovis* dans des macrophages en culture et chez la souris.

¹ « Attenuation of virulence by disruption of *Mycobacterium tuberculosis erp* gene ». F-X BERTHET, M. LAGRANDE, P. GOUVION, C. LAURENT-WINTER, D. ENSERGUEIX, P. CHAVAROT, F. HOURON, E. MARANGHI, V. PELICIE, D. PORTNOÏ, G. MARCHAL, B. GICQUEL. Science, 23 octobre 1998.

La réintroduction de *erp* dans les souches mutantes restaure leur capacité de multiplication.

Ces résultats suggèrent que le gène *erp* pourrait être un bon candidat pour l'atténuation de la virulence de *Mycobacterium tuberculosis* et pour l'élaboration de nouveaux vaccins contre la tuberculose, en partie des vaccins vivants atténués.

Ces travaux ouvrent une voie nouvelle pour l'étude des mécanismes de la pathogénicité des mycobactéries et pour la mise au point de nouveaux vaccins contre la tuberculose qui tue encore plus de 3 millions de personnes chaque année dans le monde

DE L'UTILITÉ DE TROUVER DE NOUVEAUX VACCINS...¹

Liste non exhaustive des pathogènes non encore couverts par une vaccination :

Chlamydia sp.
Coccidioides immitis
Cryptococcus neoformans
Cytomegalovirus
Dengue
Entamoeba histolytica
Enterotoxigenic Escherichia coli
Epstein-Barr virus (EBV)
Group A streptococcus
Haemophilis influenzae non typable
Hepatitis C virus (HCV)
Hepatitis D
Hepatitis E
Herpès simples virus types 1 et 2
Histoplasma capsulatum
Human Immune Deficiency virus HIV-1
Human Immune Deficiency virus HIV-2
Human papillomavirus
Legionella pneumophila
Leishmania sp.
Moraxella catarrhalis
Mycoplasma pneumoniae
Neisseria gonorrhoeae
Parainfluenza virus
Plasmodium spp.
Pseudomonas aeruginosa
Pseudomona cepacia
Respiratory syncytial virus
Rickettsia rickettsii
Schistosoma mansoni
Shigella
Toxoplasma gondii
Treponema pallidum

¹ Source : *The Scientific future of DNA for immunization. Colloquium of the American Academy of Microbiology. Juin 1996.*

1.2.4. LA PHARMACOGÉNOMIQUE

« *Right drug, right person, right time* » (*le bon médicament, à la bonne personne, au bon moment*)¹

1.2.4.1. Définition

La pharmacogénomique est l'étude des mécanismes génétiques des variations individuelles de la réponse aux xénobiotiques et, plus particulièrement, aux médicaments. Ces connaissances sont appliquées ou applicables à l'adaptation de certains traitements à chaque patient.

Sur les trois milliards de bases du génome humain, 99,9 % sont identiques d'un individu à l'autre. Les variations ou polymorphismes des 0,1 %, pourcentage pourtant infime, mais représentant trois millions de nucléotides, sont à la base des différences entre les individus. **Parmi celles-ci figure la sensibilité aux médicaments.** On entend par là que, pour une dose donnée, la réponse des individus est plus ou moins forte, excessive chez certains et faisant courir un risque de toxicité, insuffisante chez d'autres et pouvant entraîner l'inefficacité du traitement. Parfois, le changement est qualitatif :

- il n'y a aucune réponse (insensibilité) ;
- la réponse est différente de celle attendue.

On voit l'importance que cela peut revêtir en clinique et l'intérêt que présente la possibilité d'identifier les malades s'écartant des normes habituelles.

Le mécanisme d'interposition entre le gène et la réponse de l'organisme a deux origines possibles :

L'une pharmacodynamique, s'il s'agit d'une modification du récepteur auquel le médicament vient se lier.

L'autre, pharmacocinétique, s'il s'agit d'une modification du métabolisme de celui-ci liée à une différence dans l'équipement enzymatique.

En dehors des atypies entraînant des variations dans l'activité d'une enzyme, il faut souligner la variabilité due à la réalité de notre unicité

¹ Définition de la pharmacogénomique par le Professeur George POSTE.

individuelle. Par exemple, les cytochromes hépatiques, enzymes oxydant les xénobiotiques et jouant un rôle central dans leur métabolisme, peuvent exister chacun sous plusieurs centaines de variétés, appelés iso-enzymes ;

Le terme « pharmacogénétique » est apparu dès la fin des années cinquante pour désigner les « modifications des réponses pharmacologiques sous l'influence de l'hérédité ». À cette époque, l'analyse génétique n'était possible que par l'analyse des expressions phénotypiques, en particulier des différences interindividuelles dans l'équipement enzymatique et ses conséquences sur le métabolisme des produits. Dans un certain nombre de cas, devenus classiques, tels la sensibilité à la succinylcholine ou le métabolisme de l'isoniazide, l'identification du phénotype par des tests biologiques a pu conduire à des applications cliniques encore utilisées aujourd'hui.

La différence entre pharmacogénétique et pharmacogénomique est claire. La pharmacogénomique s'adresse au gène lui-même et non plus seulement à son expression. Elle englobe la pharmacogénétique et la renouvelle en identifiant les variations du génome responsables des modifications des réponses de l'organisme. Lorsque les liens entre les mutations d'un ou plusieurs gènes et leurs traductions au niveau d'une enzyme ou d'un récepteur, ainsi que les conséquences cliniques de celles-ci, sont établis, l'analyse du génome, désormais rapide et sûre, permet d'éviter le recours à des dosages et à des tests biologiques souvent longs, délicats, parfois imprécis et toujours indirects.

1.2.4.2. Les applications de la pharmacogénomique

◆ Des traitements adaptés aux patients

- **La maîtrise de la toxicité des traitements.** La pharmacogénomique a des applications immédiates dans le traitement des leucémies et des greffes d'organes. Aux États-Unis, la Mayo Clinic et la société Variagenics ont mis au point, au printemps 1998, un test de dépistage d'une infime anomalie génétique qui, par l'intermédiaire de la production d'une enzyme (la TPMT), freine le métabolisme de deux médicaments : l'azathiopurine et le 6-mercaptopurine. Les patients atteints de cette variation génétique peuvent être mortellement empoisonnés par ces médicaments. Or, les médicaments de la famille des thiopurines permettent d'atteindre un taux de rémission de 80 % dans le cas des leucémies lymphoblastiques. On ne peut donc renoncer à les utiliser. La solution est de faire passer un test génétique aux patients susceptibles d'être traités afin de donner à ceux qui présentent cette variation génétique des doses inférieures aux doses standard.

Autre exemple, le laboratoire Abbott a signé avec le société Genset un contrat de coopération de recherche pour un traitement contre l'asthme. Il s'agit d'identifier les gènes responsables de désordres hépatiques observés chez certains patients prenant du Zyflo, afin de mettre au point un test de dépistage. Les sujets susceptibles d'avoir ces problèmes de toxicité hépatique seraient écartés de ce type de traitement dès le départ alors qu'actuellement, il faut surveiller l'ensemble des patients pendant toute la durée du traitement.

- La détermination de la résistance à certains médicaments

Les chercheurs des laboratoires ont déjà découvert de nombreuses variations génétiques modifiant la production de cytochromes et entraînant une résistance des patients aux antidépresseurs et aux médicaments permettant de traiter les psychoses ou de réguler le rythme cardiaque.

À l'hôpital Bichat sont étudiées les mutations du génome du VIH pouvant induire une résistance aux médicaments antiviraux.

- L'évaluation des résultats positifs des traitements

À l'hôpital Broussais, les médecins établissent des corrélations entre les variations génétiques des patients et les bénéfices réels observés des traitements contre le cholestérol ou l'hypertension.

En 1998, des chercheurs canadiens et hollandais ont mis en évidence un polymorphisme permettant d'indiquer si un traitement à base de Pravastatin, du laboratoire Bristol-Myers Squibb, bénéficiera réellement au patient.

Des scientifiques de la société Myriad Genetics Inc. ont trouvé une variation génétique expliquant pourquoi le sel augmente la pression sanguine chez certaines personnes seulement et permettant donc d'évaluer l'efficacité d'un éventuel régime hyposodé.

- L'utilisation de la pharmacogénomique en chirurgie

On peut citer deux exemples :

- le dépistage génétique d'un polymorphisme fréquent dans la population permet de diminuer le risque thrombotique post opératoire ;

- les modalités d'intervention chirurgicale des sujets porteurs de cancers colorectaux dépendent en partie de l'existence d'une mutation sur un gène de susceptibilité.

En conclusion, en référence aux maladies cancéreuses, il est clair, aujourd'hui, que les altérations génétiques présentes dans les cellules cancéreuses conditionnent leur comportement face à la radiothérapie et la chimiothérapie. Demain, les traitements anticancéreux prendront en compte non seulement la constitution génétique du patient mais aussi celle de sa tumeur, conduisant à un véritable traitement « sur mesure » minimisant les risques et optimisant l'efficacité.

À terme, la pharmacogénomique permettra de prescrire les médicaments appropriés aux malades répondant bien et d'éviter l'usage de certains médicaments chez les personnes réfractaires ou répondant mal au traitement.

On peut espérer, en adaptant les traitement en fonction de certaines caractéristiques génétiques, améliorer leur efficacité : aujourd'hui, un grand nombre de patients répondent insuffisamment à des médicaments tels que les bêtabloquants, l'interféron, ou les inhibiteurs de l'enzyme de conversion de l'angiotensine.

La pharmacogénomique devrait permettre d'améliorer cette situation.

◆ La recherche de médicaments

La pharmacogénomique ne se contentera pas de modifier l'administration du médicament en fonction des réponses des patients ; en fait elle est appelée à jouer un rôle important à toutes les étapes de la vie du médicament.

- Le ciblage des essais

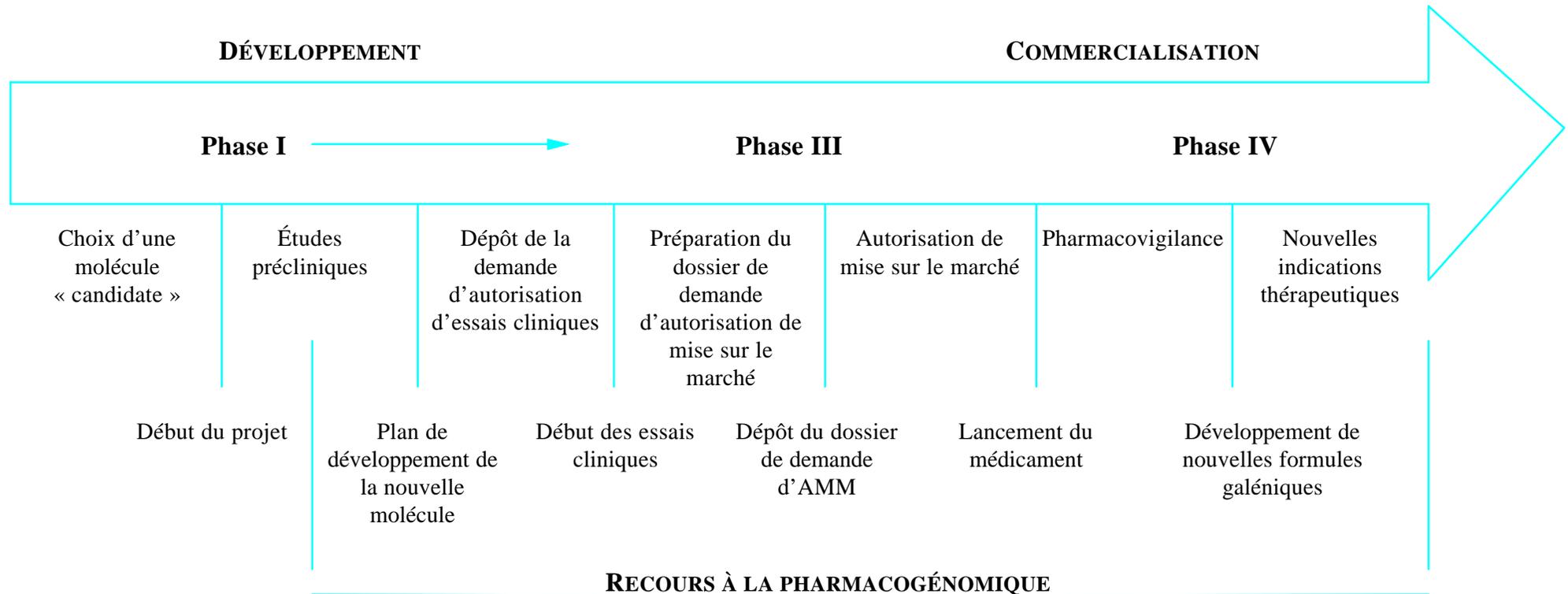
Aujourd'hui, 30 % environ des nouvelles molécules n'atteignent pas la phase III des essais cliniques **à cause d'effets secondaires indésirables**.

La découverte de ces effets à une phase avancée des essais cliniques génère un énorme gâchis de temps et d'argent.

Le recours à la pharmacogénomique permettra de sélectionner pour les essais des personnes présentant la plus grande variété de réponses à un médicament et de réduire ainsi la taille de l'échantillon représentatif. On évitera ainsi les mauvaises surprises dues à des effets secondaires n'apparaissant que tardivement, au fur et à mesure que le nombre de patients impliqués dans les essais augmente. L'estimation précoce de l'efficacité et de l'innocuité d'un médicament est un élément important de réduction de la durée et des coûts de la recherche pharmaceutique.

On pourra en même temps évaluer le taux d'incidence de ces effets secondaires. En raison des variations génétiques individuelles, il est possible que le médicament n'ait des effets indésirables que pour un très faible pourcentage d'individus et soit entièrement efficace et sans danger pour le reste de la population.

LA PHARMACOGÉNOMIQUE DANS LE PROCESSUS DE DÉVELOPPEMENT DU PRODUIT PHARMACEUTIQUE



Source : Millennium Predictive Medicine. C. Van HUFFEL.

- La récupération de molécules délaissées

Actuellement, sur dix molécules entamant la phase I des essais cliniques, une seule parvient sur le marché. La pharmacogénomique peut améliorer cette situation en démontrant que certains candidats médicaments, s'ils sont inutiles ou dangereux pour certains patients, peuvent être utilisés pour d'autres ; en fonction des polymorphismes, ils peuvent avoir des applications insoupçonnées.

Dans le cas de la maladie d'Alzheimer, des recherches menées au Canada ont montré que le gène Apolipoprotéine E était un moyen d'évaluation des médicaments potentiels. La mutation de ce gène est responsable, par exemple, pour plus de 60 % des patients, de l'échec de la tacrine, administrée aujourd'hui sans discrimination aux personnes souffrant de la maladie d'Alzheimer.

Mieux encore, ces travaux génétiques ont également permis à des chercheurs lillois de découvrir que ces malades, dont le gène Apolipoprotéine E muté, entraîne une résistance à la tacrine, réagissent bien, en revanche, à une molécule expérimentale (S 12024) que l'on s'apprêtait à « abandonner » pour cause d'inutilité...

- Les tests génétiques

La mise au point de ces tests est appelée à se développer pour optimiser et réduire les risques de molécules déjà connues et en trouver de nouvelles.

L'idée, à long terme, est de faire passer un test à un malade avant de lui donner un traitement afin que lui soient prescrits les médicaments les mieux adaptés à son profil génétique.

D'ores et déjà, la société américaine Affymetrix a mis au point, avec le centre médical de l'Université de Georgetown, et commercialisé la première puce à ADN spécifiquement destinée à une utilisation en pharmacogénomique. Elle est capable de détecter dix-huit altérations connues de deux gènes humains codant pour des enzymes impliqués dans le métabolisme de médicaments tels que des bêtabloquants (anti-hypertenseurs) et certains antidépresseurs et anticonvulsifs.

1.2.4.3. Les différentes approches de la pharmacogénomique

La pharmacogénomique génère deux options de stratégie de recherche-développement pour les firmes pharmaceutiques :

- soit elles optent pour des études menées, en interne, par leur propres services de recherche. Cette solution assez coûteuse a été choisie par Bristol-Myers Squibb, Novartis, Glaxo et Pfizer.

- soit elles externalisent ces recherches et passent des contrats avec des entreprises de biotechnologie spécialisées dans la pharmacogénomique. Les plus importantes sont les suivantes :

COMPAGNIE	STRATÉGIE
VARIAGENICS Cambridge, Massachusetts	Recherche de polymorphismes dans les gènes impliqués dans le cheminement des médicaments dans l'organisme. Essais cliniques sur le cancer.
GENSET Paris, France	Création d'une carte du génome montrant la localisation de 60 000 polymorphismes. A passé un contrat de pharmacogénomique de 22,5 millions de dollars avec les laboratoires Abbott.
INCYTE PHARMACEUTICALS Palo Alto, Californie	Recherche des polymorphismes pour chaque gène isolé. Création de bases de données pouvant être utilisées pour la recherche-développement de médicaments ou pour les traitements individualisés.
MILLENNIUM PHARMACEUTICALS Cambridge, Massachusetts	A créé la « médecine prédictive », auxiliaire de l'utilisation des variations génétiques pour améliorer la recherche de médicaments. Fait partie d'un consortium avec Bristol-Myers Squibb et l'Institut Whitehead du MIT.
GENENTECH San Francisco, Californie	Commercialise un médicament contre les cancers du sein qui est efficace seulement chez les 25 à 35 % de la population qui ont une variation génétique particulière.

(1)

¹ Tableau et citations extraits et traduits de l'article « This drug's for you ». Business Week. 18 janvier 1999.

Les approches les plus originales sont celles qu'ont choisi Variagenics, Millenium Pharmaceuticals et Genset.

- Variagenics s'intéresse aux variations génétiques impliquant des différences d'expression des protéines que rencontre un médicament lors de son cheminement dans l'organisme. Le niveau d'expression de ces protéines modifie l'efficacité ou la toxicité d'un produit : « *lorsqu'on prend un médicament, il touche 30 à 40 protéines différentes avant de quitter le corps* ». ¹

Les chercheurs de Variagenics ont identifié plus de 6000 gènes impliqués dans le cheminement des médicaments et, en mai 1998, ils ont mis en place des essais cliniques pour étudier les différences génétiques entre les patients atteints d'un cancer du colon et soignés avec du 5-Fluorouracil.

- Chez Millenium Pharmaceuticals, dans la division de Médecine Prédictive, les chercheurs comparent les gènes activés dans plusieurs types de cellules cancéreuses afin d'identifier ceux qui correspondent aux formes agressives des différents cancers. Être capable de déterminer si un cancer croît lentement ou rapidement à des conséquences énormes pour le traitement que doit suivre le patient. Millenium recherche donc à connaître les gènes dont la présence signe, par exemple, la certitude d'une métastase.

« *Millenium a trouvé un gène, dans les cellules du mélanome, qui agit comme une boule de cristal. Lorsqu'il est là, le cancer ne forme pas de métastases ; mais quand il est absent, le cancer devient tueur* » ¹.

- Genset, société française dont le siège est au Génomole d'Évry, a élaboré une carte à haute résolution du génome humain. La démarche est une approche génomique globale qui permet de comparer les séquences d'ADN d'individus n'appartenant pas forcément à la même famille (ce qui facilite l'opération) et présentant certains traits cliniques (malades, non malades, répondeurs, non répondeurs) afin de localiser les polymorphismes à l'origine de ces traits.

Les différentes formes que peut prendre un gène s'appellent des allèles ; la carte établie par Genset s'appelle « **carte à haute résolution de marqueurs bi-alléliques** ». Pour la réaliser, les chercheurs ont placé des jalons (environ 60 000 « marqueurs ») sur les zones sensibles de l'ADN. En comparant des régions du génome de malades très réceptifs à un traitement à celles de patients réfractaires, ils veulent parvenir à localiser la variation génétique concernée et à l'identifier.

¹ *Tableau et citation extraits et traduits de l'article « This drug's for you ». Business Week. 18 janvier 1999.*

1.2.4.4. Espoirs et limites de la pharmacogénomique

L'hypothèse de base de la pharmacogénomique est d'obtenir par l'établissement préalable du profil génétique d'un individu, la possibilité de choisir les médicaments pouvant lui être profitables, d'éviter ceux qui pourraient lui être nuisibles et d'adapter la posologie à son cas particulier. Ceci suppose l'existence de tests rapides (pour pouvoir être effectués avant l'institution du traitement), fiables et peu coûteux. À la limite, ce profil pourrait être établi dès la naissance et renouvelé périodiquement pour tenir compte de l'apparition des nouveaux médicaments.

« Cette hypothèse est légitime dans la mesure où elle justifie les efforts et les investissements dans ce secteur. Il n'est cependant pas illégitime de la tempérer par quelques considérations.

Tout d'abord, les facteurs génétiques ne sont pas les seuls à influencer les réponses aux médicaments. Les facteurs acquis ne sont pas à négliger.

Ensuite, on doit s'interroger sur la force de la liaison entre le gène et la réponse. C'est le problème classique des relations génotype-phénotype et phénotype-réponse. L'intérêt d'un test en dépend étroitement. Ce lien est certainement très fort et pertinent dans certains cas, beaucoup moins dans bien d'autres.

Il convient également de considérer l'impact clinique de la modification génétique. Seul celui-ci compte en pratique. Par exemple, une variation d'activité enzymatique ou de taux plasmatique du médicament de 50 % n'a d'intérêt que si elle entraîne des conséquences en termes d'efficacité ou de tolérance. Or, l'indifférence thérapeutique est la règle et non l'exception et les armoires des pharmacologues sont encombrées de publications de variations de métabolisme dépourvues de toute incidence clinique.

Enfin, l'exemple de la pharmacogénétique montre que beaucoup de recherches ont débouché sur peu d'applications bien qu'elle soit plus proche du phénotype et de la réponse que la pharmacogénomique (il est vrai que la pharmacogénomique peut être plus précise et plus simple à mettre en œuvre).

On peut donc légitimement se demander si les applications de la pharmacogénomique, loin d'être ubiquitaires, ne se limiteront pas à un certain nombre de médicaments et de circonstances particulières, dont le critère de sélection sera la pertinence clinique. On retrouverait alors un instrument de diagnostic biologique, puissant certes, dont l'indication serait à discuter dans le cadre d'une stratégie thérapeutique. Ce qui évidemment, n'enlèverait rien à l'intérêt de la pharmacogénomique et à l'urgence d'investir dans ce domaine. »¹

¹ J. DANGOUMAU, Professeur des universités, praticien hospitalier, pharmacologie.

1.2.5. LE DIAGNOSTIC MOLÉCULAIRE

Le diagnostic moléculaire fait appel aux technologies issues en particulier de la biologie moléculaire (étude des molécules qui constituent la cellule et des processus moléculaires qui régissent son fonctionnement). Il repose sur l'utilisation de tests ciblant directement le patrimoine génétique. Ceux-ci sont notamment réalisés grâce à des puces à ADN.

La dépense globale du diagnostic médical, est chiffrée à 25 milliards de dollars par an ; 10 à 20 % de l'ensemble des analyses seront vraisemblablement réalisés sur des biopuces en 2005.

Le diagnostic moléculaire couvre deux champs distincts : les biopuces permettent de détecter les maladies infectieuses et les maladies génétiques.

1.2.5.1. Le diagnostic des maladies infectieuses

Les pathologies visées par les diagnostics sur biopuces sont celles qui nécessitent une grande rapidité d'intervention et pour lesquelles les méthodes traditionnelles de diagnostic sont limitées. En effet, le diagnostic moléculaire permet des tests plus rapides, sensibles et spécifiques. En évitant certaines étapes préliminaires telle que la culture, il permet d'obtenir un résultat en quelques heures là où plusieurs jours étaient nécessaires.

Le champ d'application :

- les maladies sexuellement transmissibles telles que les infections à *Chlamydiae* et *N. Gonorrhoeae* ;

- l'hépatite C : la société CIS Bio International a mis au point une biopuce capable de détecter la présence du virus de l'hépatite C et d'en préciser le type (I, II ou III).

- la tuberculose : chez Bio-Mérieux, le programme de recherche sur les puces à ADN est orienté vers une puce capable d'identifier en une seule étape toutes les espèces de mycobactéries connues (dont le bacille de la tuberculose), pathogènes ou non pathogènes. Elle permettra d'identifier précisément l'espèce présente dans un prélèvement pulmonaire et renseignera, en cas de *Mycobacterium tuberculosis*, sur la présence d'éventuelles mutations conférant une résistance au médicament antituberculeux classique : la rifampicine. Cette puce Mycobactéries compte aujourd'hui plus de 40 000 oligonucléotides.

- Dans le domaine, fort préoccupant lui aussi, des infections nosocomiales la société Bio-Mérieux Vitek étudie des biopuces regroupant des

sondes spécifiques des ARN bactériens. Celles-ci pourraient permettre d'identifier les souches bactériennes dans les hôpitaux de déterminer rapidement les germes résistants aux antibiotiques et de prendre notamment des mesures prophylactiques.

La société Vysis (Napperville, Illinois) élabore un outil de diagnostic miniaturisé basé sur l'hybridation génomique comparative. « *Cette puce, intitulée Genosensor CGH d'environ 6 cm² sera constituée de 625 sondes représentatives du génome humain et permettra la détermination de plusieurs centaines d'aberrations génétiques.* »¹ Il conviendra ensuite de préciser les conséquences de ces mutations.

- Les puces VIH diffèrent selon les sociétés qui les ont mises au point.

La puce mise au point par Affymetrix, commercialisée début 1996 permet de rechercher, parmi une portion restreinte du millier de paires de bases du génome du VIH-1, les mutations conférant au virus une résistance vis-à-vis des inhibiteurs de la transcriptase inverse et des antiprotéases. Elle donne un résultat en cinq heures seulement.

Une biopuce, objet de recherche chez Bio-Mérieux, rendra possible un test quantitatif de mesure de la charge virale, particulièrement utile aujourd'hui avec le développement des trithérapies.

- Le diagnostic du cancer peut également être réalisé par des biopuces, notamment par l'étude des gènes K-Ras et P 53.

CIS-Bio International et le Centre de lutte contre le cancer de Montpellier ont conçu, selon le procédé Micam, une biopuce capable d'identifier des mutations dans les oncogènes², notamment dans le gène K-Ras.

Affymetrix a, pour sa part, développé avec la firme Oncormed, spécialiste des tests génétiques de cancérologie, une puce capable de détecter les mutations du gène P 53. Ce gène suppresseur de tumeur est en effet muté dans près de la moitié des cancers. Commercialisée depuis juillet 1997 cette puce n'est pas seulement un outil de diagnostic, elle permet également de suivre l'impact, sur la tumeur, des traitements de radiothérapie ou de chimiothérapie.

¹ Le technoscope de Biofutur. N° 166. Avril 1997.

² Gènes considérés comme indispensables au développement d'une tumeur.

1.2.5.2. La connaissance des prédispositions génétiques

Actuellement, dans certains cas, les puces à ADN permettent de déceler les mutations génétiques indiquant qu'un individu a de fortes probabilités d'être atteint de telle ou telle maladie.

Plusieurs types de puces permettent, avec une fiabilité comparable aux techniques classiques de biologie moléculaire mais de façon plus rapide, plus simple et à terme moins coûteuse, de détecter des prédispositions génétiques. On peut citer :

- les mutations du gène CFTR chez les patients qui risquent d'avoir une mucoviscidose ;

- les mutations du gène de la bêta-globine chez les enfants menacés de bêta-thalassémie (anémie héréditaire causée par un défaut dans la synthèse de l'hémoglobuline) ;

- les mutations du gène BRCA 1 chez les femmes risquant d'être atteintes d'un cancer du sein. Dans ce dernier cas on peut même avoir recours, si le gène ne présente que de minuscules atteintes (microdélétions) à des puces spécialisées qui ne sondent que les positions connues pour porter ces mutations.

1.2.6. LES PROTÉINES THÉRAPEUTIQUES

1.2.6.1. Des protéines animales aux protéines recombinantes

◆ Dans un premier temps, un certain nombre de protéines naturelles étaient extraites de fluides biologiques ou organes animaux et humains dans un but thérapeutique. C'était le cas du facteur VIII, de l'urokinase, de l'insuline, de la calcitonine, de l'hormone de croissance...

Toutefois, cette production par extraction présentait des inconvénients :

- le risque de contamination lorsque les protéines venaient de sujets malades non détectés ;

- l'hétérogénéité des protéines d'extraction animales pouvant provoquer des réactions immunitaires chez les patients ;

- la disponibilité limitée de matière première (l'hypophyse humaine par exemple).

◆ Puis la connaissance des gènes et les procédés biotechnologiques ont ouvert, au début des années quatre-vingt, une nouvelle voie pour la production des protéines thérapeutiques ; le procédé se déroule en quatre phases :

- détection et isolation du gène humain codant pour la protéine recherchée ;

- intégration de ce gène dans une cellule-hôte (une bactérie ou une levure) ;

- culture des cellules qui expriment la protéine ;

- extraction et purification de la protéine.

Les protéines ainsi produites couvrent un large champ thérapeutique :

Produit	Indication thérapeutique	Première date d'autorisation
- Abaximab	Antiplaquettaire	1994
- Aldeslenkine - IL 2	Carcinome du rein	1992
- Altéplase t - PA	Infarctus du myocarde aigu	1995
- DNase	Mucoviscidose	1993
- Erythropoïétine (EPO)	Anémies	1988
- Facteurs de croissance hématopoïétiques	Cancer	1991
- Facteur VIII	Hémophilie A	1992
- Filgrastim fG- CSF	Neutropénie associée à la chimiothérapie Transplantation de moelle	1991
- Glucocérébrosidase	Maladie de Gaucher	1994
- Hormone de croissance humaine	Insuffisance en hormone de croissance chez l'enfant	1985
- Insuline	Diabète sucré insulino-dépendant	1982
- Interférons α	Leucémie, Sarcome de Kaposi, Hépatites C et B, Mélanome malin, Condylomes acuminés	1986
- Interférons β	Sclérose en plaques, Granulomatose chronique	1986
- Muromonab CD3	Rejet de greffe aigu	1993
- Sagramostim	Transplantation de moelle, leucémie myéloïde	1991
- Satumonab pendetide	Détection et suivi du cancer colorectal et de l'ovaire	1996
- Vaccin hépatite B	Hépatite B	1986

1.2.6.2. Les protéines issues d'animaux transgéniques

Un nouveau mode de production de protéine émerge actuellement. Il repose sur l'insertion de certains gènes, codant pour la production de protéines thérapeutiques, dans des cellules animales au stade embryonnaire.

Les animaux choisis sont producteurs de lait (chèvres, vaches, truies ou lapines : dans ce lait est produite la protéine).

Trois grands laboratoires mettent au point cette technique :

- chez Genzyme Transgenic des chèvres produisent de l'antithrombine III. Cet anticoagulant est en phase trois d'essais cliniques et sera utilisé à l'occasion des pontages cardio-pulmonaires.

Le recours aux chèvres convient pour des protéines à produire en grande quantité telles que l'albumine humaine.

- Pharming a recours à des lapines pour produire des protéines dont les quantités nécessaires sont moins importantes : l'alpha-glucosidase, par exemple, utilisée dans le traitement de la maladie de Pompe (déficit enzymatique qui peut être mortel).

- PPL Therapeutics fait usage de cinq types d'animaux (lapin, mouton, souris, vache et porc) ; cette société dispose d'un troupeau de 600 brebis laitières. Elle produit de la sérumalbumine humaine.

Une plus petite entreprise, Gala Design, au Canada, utilise une technique de thérapie génique pour introduire le gène désiré directement dans le pis d'une vache.

2. DEUXIÈME PARTIE : DE NOUVEAUX CHOIX À FAIRE

Toutes les profondes modifications scientifiques et technologiques qui viennent d'être exposées ont pour conséquence l'absolue nécessité d'espérer de nouveaux choix dans les domaines de la recherche, de l'industrie et de la société.

Il s'agit d'une priorité : si la France ne s'adapte pas très rapidement à ces nouvelles technologies, elle sera totalement distancée dans la « course biologique » qui caractérisera le XXI^e siècle.

Ce serait d'autant plus regrettable que, grâce aux travaux de grands chercheurs tels que Jean DAUSSET, Daniel COHEN ou Jean WEISENBACH, notre pays, au début des années quatre-vingt-dix, ne manquait pas d'atouts. La situation s'est gravement dégradée depuis cette époque. Il est urgent de faire de nouveaux choix.

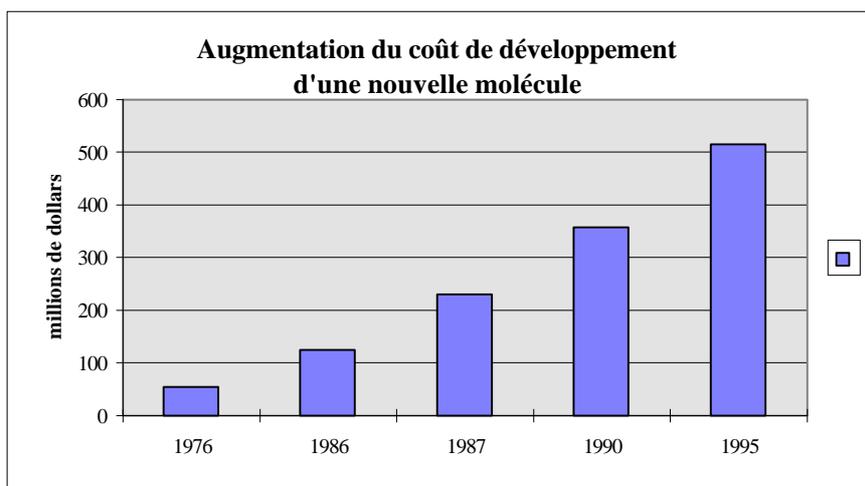
2.1. POUR LA RECHERCHE

2.1.1. LES STRUCTURES DE LA RECHERCHE

2.1.1.1. Les nouvelles stratégies de recherche dans l'industrie pharmaceutique et leurs conséquences

2.1.1.1.1. L'externalisation croissante de la recherche

Le développement de nouveaux médicaments atteint des coûts de plus en plus élevés : 3 milliards de francs et douze ans de mise au point pour une nouvelle molécule thérapeutique.



(1)

Les grands groupes pharmaceutiques, compte tenu du contexte de concurrence, doivent donc améliorer significativement la productivité de leur recherche-développement et déposer des brevets pour de nouvelles molécules.

De nombreux analystes du secteur pharmaceutique estiment que la productivité de la recherche-développement des firmes pharmaceutiques n'est pas suffisante. Les dix dernières années ont été marquées, dans toute l'industrie pharmaceutique par une chute du nombre de lancements de nouveaux médicaments : 62 lancements en 1987, 37 en 1996 et 47 en 1997². Les stratégies de recherche-développement des grands groupes ne semblent pas permettre :

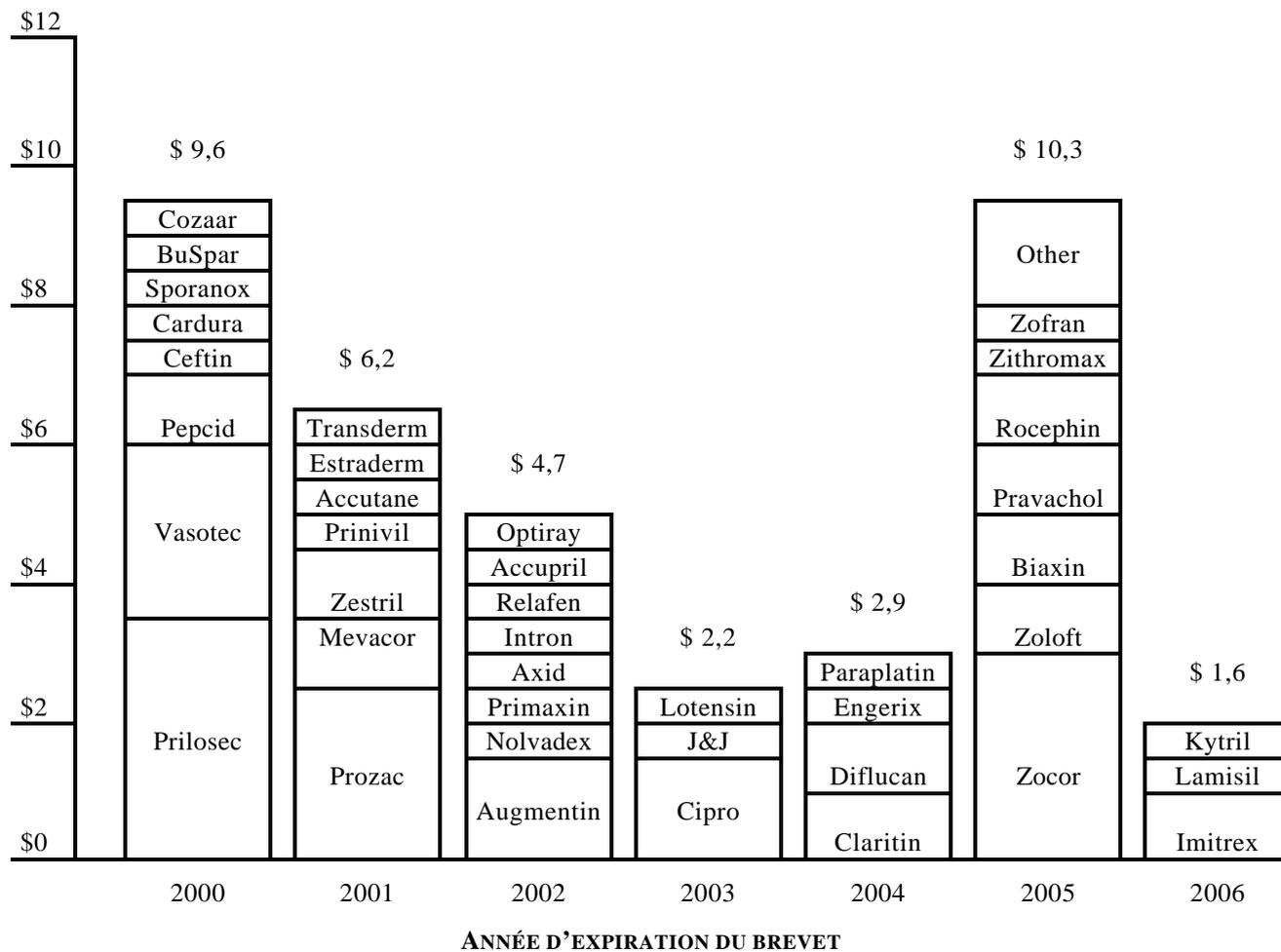
- d'assurer un « retour » financier acceptable, à leurs yeux, sur les dépenses de recherche-développement ;
- d'introduire un nombre suffisant de molécules sur le marché pour élargir l'éventail des offres de soins et, parallèlement, pallier la diminution des revenus des produits anciens dont les brevets arrivent à expiration. Ce dernier problème va devenir crucial dans les années à venir, ainsi que le montre le tableau suivant :

¹ *New Drug Discovery Technologies. Lehman Brothers.*

² « Publique et privée : quelles conditions pour une recherche commune ? » Intervention de François MEYER, directeur de la recherche de Rhône Poulenc Rorer. Cercle institutionnel, 13 octobre 1998.

EXPIRATION DES BREVETS DES MÉDICAMENTS LES PLUS PRESCRITS DANS LE MONDE¹

**Ventes
mondiales
en 1996 (en
milliards de
dollars)**



¹ Source : Med Ad News, Mai 1997.
Millenium Predictive Medicine.

Les groupes pharmaceutiques actuels ne peuvent mener à bien ces recherches. L'industrie pharmaceutique est faiblement concentrée : malgré les récents rapprochements, aucun groupe ne représente plus de 5 % du marché mondial et ne peut ni prendre le risque scientifique ni supporter la charge financière de la recherche-développement de très nombreuses molécules.

LES TRENTE PREMIERS GROUPES PHARMACEUTIQUES MONDIAUX¹

Rang	Groupes	Parts du marché mondial
1	Novartis	4,24 %
2	Merk&Co	4,22 %
3	Glaxo Wellcome	4,20 %
4	Pfizer	3,93 %
5	Bristol Myers Squibb	3,90 %
6	Johnson&Johnson	3,59 %
7	American Home Products	3,11 %
8	Roche	3,05 %
9	Smithkline Beecham	2,93 %
10	Lilly	2,93 %
11	Astra	2,75 %
12	Abbott	2,53 %
13	Hoechst	2,48 %
14	Schering Plough	2,45 %
15	Warner Lambert	2,37 %
16	Bayer	2,08 %
17	Rhône-Poulenc	1,82 %
18	Pharmacia&Upjohn	1,80 %
19	Zeneca	1,50 %
20	Boehringer Ingel	1,45 %
21	Takeda	1,43 %
22	Schering AG	1,02 %
23	Sankyo	0,97 %
24	Amgen	0,91 %
25	Sanofi	0,90 %
26	Monsanto (Searle)	0,89 %
27	BASF	0,75 %
28	Yamanouchi Setyaku	0,74 %
29	Merk Kgaa	0,72 %
30	Esai	0,67 %

N.B. : Compte tenu des fusions intervenues en 1999, le groupe Rhône-Poulenc Rorer-Hoechst Marion Roussel (Aventis) aura une part de marché égale à 4,30 %, le groupe Astra-Zeneca 4,25 % et le groupe Sanofi-Synthélabo 1,48 %.

¹ World Review 1999. The Pharmaceutical Market. IMS ELF, Londres.

Les groupes sont amenés à externaliser leur recherche : on estime à près de 30 % du budget de recherche-développement des dix plus grands groupes mondiaux la part externalisées en 2000, contre 4% en 1994.

2.1.1.1.2. Les nouveaux partenariats

Cette externalisation se concrétise par des accords entre les groupes et les entreprises de biotechnologie :

ACCORDS PHARMA-BIOTECH DANS LA NOUVELLE APPROCHE DE MISE AU POINT DE MÉDICAMENTS (EN FÉVRIER 1999)					
Sociétés pharmaceutiques	Entreprises de biotechnologie par secteur de recherche				
	Génomique	Chimie combinatoire	Tests biologiques	Chimio- informatique	Autres (thérapie génique...)
Novartis	HGS Myriad Genetics Progenitor	Pharmacopeia	Evotec		Idun Pharma OSI Pharma Onyx SIBIA Synaptic
Merck & Co	Merck Genome Center Lexicon Genetics Genome Therapeutics Affymetrix	Argonaut	Cellomics		Axys Cubist Synaptic Tularik Isis
Glaxo Wellcome	Incyte Affymetrix Lynx Therapeutics Ribozyme	Affymax Dyax		MDL Info.Syst. Cruciform Project Tripos	Ligand Axys
Pfizer	Incyte ChemGenics (Millennium) Mycopharm (Millennium) Microcide Affymetrix AEA technology Rigel Sangamo biosciences Oxford Glycosciences	Oxford Asymmetry		Tripos	Ligand
Bristol Myers Squibb	Millennium Incyte Genome Therapeutics Affymetrix SEQ Molecular Dynamics	Trega Xenova	Aurora	Tripos	Cadus ChromaXome Cubist SIBIA
Johnson & Johnson	Incyte Genset Microside Algene	ArQule			Allelix Sepracor
American Home Products (Wyeth Ayerst) (USA)	Millennium Genset Affymetrix ChemGenics Molecular dynamics Acacia Biosciences	ArQule	SIGA Ontogeny	3-Dimensional Pharm. Netgenics	Ligand
Roche	Incyte Millennium Affymetrix Caliper Synteni Deltagen Ribozyme deCODE Genetics	Alanex Agouron ArQule Combichem Morphosys	Clontech Aurora	Oxford molecular	Signal
Eli Lilly	Incyte Millennium Myriad genetics	Sphinx	Aurora Peptid therapeutics		Allelix Ligand Onyx Synaptic
SmithKline Beecham	HGS Incyte/diaDexus Hyseq Synteni		Evotec	Orchid Biocomputer	Axys Cadus Ligand Corixa Aphtron USBiomaterials

Source : « Biotechnologies et Santé ». Publication Eurasanté. Lille 1999.

**GENCELL (RHÔNE-POULENC RORER) : COLLABORATIONS AVEC
DES ENTREPRISES DE BIOTECHNOLOGIE
EN THÉRAPIE GÉNIQUE ET CELLULAIRE**

		Domaine de recherche
France	Génoipoïetic	Gène suicide, puis plasmavirus
États-Unis	Applied Immune Science* Darwin Molecular (Chiroscience) Enzon Genetix Pharmaceuticals Incyte Intralimmune Therapeutics Introgen Therapeutics Oncormed Vical Virogenics	Thérapie cellulaire Séquençage de l'ADN à large échelle Anticorps à chaîne unique Rétrovirus Accès aux bases génomiques Anticorps intracellulaire Thérapie génique, p53 Test de diagnostic, p53 Immunothérapie et plasmides d'ADN Canary pox virus, immunothérapie

* Acquis par R-PR

(1)

**NOVARTIS : PRINCIPALES COLLABORATIONS DE RECHERCHE
AVEC DES ENTREPRISES DE BIOTECHNOLOGIE**

		Domaine de recherche
Europe	Evotec	Nano-thérapie
Japon	Yoshitomi Pharmaceuticals Industries Ltd	Immunosuppression
États-Unis	Alexion Biotransplant Chiron* Idun Incyte Myriad Osiris Pharmacopeia Sibia Synaptic T Cell Sciences	Thérapie génique Hétéro-transplantation* Large collaboration Système nerveux central/neurodégénération Bio-informatique Maladies cardiovasculaires Cellules souches Chimie combinatoire Système nerveux central Obésité Inhibition du complément

* Filiale à 53 % de Novartis

(1)

¹ « Les alliés de la biotech. Laboratoires et compagnies de biotechnologie ». Dr. François THOMAS. *Pharmaceutiques*. Octobre 1998. N° 60.

En 1997, 240 contrats représentant 4,35 milliards de dollars ont été signés entre les entreprises pharmaceutiques et les petites et moyennes entreprises de biotechnologies mondiales contre 180, pour 2,84 milliards de dollars, en 1996¹

Ce type de contrat devient progressivement familier aux sociétés de biotechnologies européennes. À titre d'exemple, voici quelques-uns des principaux contrats obtenus par des firmes européennes ces derniers mois :

- **Genset** et **Pharmacia&Upjohn** (pharmacogénomique) ;
- **Cerep** et **Exonhit** (3 programmes dont un concernant le développement d'un outil de prédiction de toxicité et un autre sur l'identification de cibles dans le domaine des maladies neurodégénératives) ;
- **Gencell** et **Endocyte** (accord prévoyant des droits exclusifs sur la propriété intellectuelle détenue par Endocyte concernant l'utilisation de récepteurs de l'acide folique pour l'administration de produits de thérapie génique en oncologie) ;
- **Gencell** et **Oxford Biomedica** (accords de collaboration et de licence sur 2 ans et portant sur un minimum de 1 million de dollars) ;
- **Gencell** et **LXR Biotechnology Inc** (accord de recherche sur le rôle cytoprotecteur du gène Sarp-1) ;
- **Exonhit Therapeutics** et **Sosei Co Ltd** (accord de partenariat franco-japonais) ;
- **Biovector Therapeutics** et **Bayer** (accord de R&D visant à mettre au point un vaccin ADN contre le SIDA) ;
- **Biovector therapeutics** et **Chiron** (accords de développement thérapeutique contre l'hémophilie).²

Cette externalisation donne également naissance à des partenariats entre les groupes pharmaceutiques et les centres de la recherche publique.

À titre d'exemple, on peut citer les accords conclus par Rhône-Poulenc Rorer. En 1998, près de 20 % du budget de recherche a été externalisé grâce à des partenariats dont un quart représentent des collaborations avec des organismes publics et semi-publics français (CNRS, INSERM, universités, Institut Pasteur...). Le médicament anticancéreux Taxotere est le résultat d'une collaboration entre Rhône-Poulenc Rorer et le CNRS. Trois unités

¹ Courrier ANVAR. N° 113. Septembre 1998.

² « Biotechnologies et Santé ». Publication Eurasanté. Lille 1999.

mixtes de recherche (UMR) regroupent des chercheurs du CNRS et de Rhône-Poulenc Rorer.

Dorénavant, la valorisation des recherches effectuées dans le secteur public passera par des accords avec les entreprises privées, associant les chercheurs publics et privés. Cette tendance existe déjà. En France, le montant des contrats entre les laboratoires de la recherche publique et des commanditaires privés ou publics était de 500 millions de francs en 1983. Il s'est élevé à 3,4 milliards de francs en 1995. Le nombre de contrats en cours entre le CNRS et des entreprises était de 350 en 1982 et de 3200 en 1996.¹

Il est indispensable que ces partenariats public-privé se renforcent en se structurant dans deux directions :

- la collaboration des chercheurs publics avec les grands groupes pharmaceutiques ;

- la collaboration des chercheurs publics avec les entreprises de biotechnologie, qui ont elles-mêmes noué des liens avec les groupes.

Cette orientation trouve son illustration dans les bilans de l'Institut Pasteur pour 1997 et 1998.

« En 1997, des partenaires nouveaux se sont manifestés et des contacts se sont développés notamment dans le secteur des biotechnologies. Il apparaît en effet de plus en plus utile de rechercher l'appui de petites sociétés innovantes, proches du milieu de la recherche, qui constituent des intermédiaires privilégiés entre les chercheurs et la grande industrie. »²

« La connaissance du génome des micro-organismes pathogènes offre en effet de vastes possibilités de recherche de nouveaux agents thérapeutiques. Dans ce domaine, l'Institut Pasteur a noué des collaborations aussi bien avec des sociétés de dimension internationale, comme Hoechst Marion Roussel, qu'avec de petites sociétés émergentes du secteur des biotechnologies.

Au total, ces contrats de Recherche et Développement ont apporté un concours industriel de près de 17 millions de francs, finançant notamment 38 personnes dont 27 jeunes chercheurs. Ce résultat est apprécié comme un succès de la politique d'intensification et de diversification des liens avec l'industrie. »³

¹ Source : *Les Chiffres clés de la science et de la technologie 1998-1999*, Observatoire des sciences et des techniques, *Economica*, 1998.

² Institut Pasteur : *Rapport 1997*.

³ Institut Pasteur : *Rapport 1998*.

L'INSERM (Institut national de la santé et de la recherche médicale) manifeste un souci analogue :

« L'INSERM soutient des programmes transversaux parmi lesquels la physiopathologie, soit tout ce qui concoure à la compréhension des maladies et la thérapeutique, avec la découverte de molécules nouvelles par le biais des biotechnologies ou de la chimie du médicament. Dans ce domaine, il est nécessaire de bâtir des plates-formes où recherche académique et recherche industrielle se trouvent mêlées. À ce titre, l'INSERM prévoit de dynamiser sa politique de brevets et de favoriser la création d'entreprises. »¹

2.1.1.2. La nécessaire valorisation de la recherche publique

« Notre pays dispose d'un potentiel scientifique et technologique de premier plan mais le couplage de ces découvertes et de ces connaissances avec les activités industrielles s'effectue moins facilement qu'aux États-Unis et au Japon »².

2.1.1.2.1. Le « transfert des chercheurs »...

◆ Une interdiction levée :

En 1998, de nombreux rapports officiels, dont celui d'Henri Guillaume et celui de la Cour des Comptes ont mis en lumière un certain nombre d'incohérences et de conflits d'intérêt faisant obstacle à la création d'entreprises par les chercheurs des organismes publics. Ceux des EPST (établissements publics à caractère scientifique et technique) n'avaient pas le droit de prendre une participation dans une société privée (loi du 13 juillet 1983). La Cour des Comptes notait en particulier *« les risques de dérive auxquelles pouvaient conduire les aménagements apportés à l'interdiction, pour un fonctionnaire de recherche, de participer au capital d'une entreprise liée par contrat avec son établissement »* : les chercheurs devaient se mettre « hors la loi », avec ou sans l'accord de leur administration, pour valoriser leur savoir dans le monde socio-économique.

« Le statut du chercheur ne lui permet pas de créer une entreprise. Du coup, la valorisation industrielle de la recherche s'opère dans la clandestinité à travers un système hypocrite favorisant l'assentiment tacite illégal de la hiérarchie au détriment d'une réelle stratégie »³.

¹ Claude GRISCELLI. La Revue Parlementaire. Supplément. 3^e trimestre 1998.

² « La technologie et l'innovation » Henri GUILLAUME. Coll. des rapports officiels. Doc. fr. 1998.

³ Propos de M. J. BAIXERAS, adjoint du délégué aux entreprises du CNRS, cités dans l'article « Un nouveau statut pour le chercheur créateur d'entreprise ». Les ÉCHOS. 13/01/1999.

C'est pourquoi le projet de loi présenté par le Ministre de l'Éducation nationale, de la Recherche et de la Technologie a eu notamment pour objectif de mettre fin à cette situation très nuisible au transfert de l'innovation à partir de la puissance publique.

Il permettra aux chercheurs et aux enseignants chercheurs de créer des entreprises : les chercheurs pourront s'engager dans la création d'une entreprise. Ils seront autorisés à participer en tant qu'associé, administrateur ou dirigeant à cette entreprise nouvelle, pendant une période à l'issue de laquelle ils pourront opter entre le retour dans le service public ou l'appartenance à l'entreprise. Durant cette période, et pour une durée maximale de six ans, ils seront détachés ou mis à disposition. Ils conserveront par conséquent leur statut de fonctionnaire. Cette entreprise pourra entretenir des liens contractuels avec le laboratoire d'origine du chercheur, ce qui facilitera le transfert de technologie. Le chercheur ne sera pas contraint à une rupture brutale avec son laboratoire d'origine.

Il est donc indispensable, cette loi ayant été finalement votée, le 30 juin 1999, à minuit, que toutes les mesures d'application soient prises très rapidement afin de mettre fin à la situation difficile de certains chercheurs et de promouvoir la valorisation de la recherche publique

◆ Des incitations à créer

Chaque année, tandis que les chercheurs américains créent 400 à 500 entreprises, leurs homologues français n'en lancent que le dixième. Afin d'améliorer cette situation, il ne suffit pas de lever les obstacles juridiques. Il convient également de créer un cadre fiscal incitatif.

Dans le cadre des mesures financières, on pourrait envisager de créer un prix annuel, dont le montant ne serait pas symbolique, destiné à récompenser l'équipe du laboratoire qui a travaillé avec un chercheur dès lors que celui-ci crée une entreprise innovante dans la spécialité du laboratoire.

Enfin, s'il est important d'inciter les chercheurs publics à se lancer dans la création d'entreprises, il est également essentiel d'encourager tous ceux qui n'ont pas l'esprit d'un chef d'entreprise, ce qui se conçoit parfaitement, à exercer des fonctions de consultant auprès des entreprises innovantes. Ces consultations doivent se situer dans un contexte de transparence et sans interférence avec les décisions publiques.

Si même cette solution suscite peu d'enthousiasme, il faut au minimum faire, dans tous les organismes de recherche, comme au Commissariat à l'Énergie atomique : inciter les chercheurs qui ne veulent pas s'engager dans l'aventure industrielle à réfléchir néanmoins aux débouchés

éventuels de leurs résultats en terme de produit ou de service, de façon à pouvoir en confier le développement à un créateur d'entreprise.

On passe ainsi du « transfert des chercheurs » au transfert des recherches.

2.1.1.2.2. ... ou le « transfert de la recherche »

Il repose sur une amélioration des structures de valorisation et de transfert technologique.

◆ Se garder de saupoudrer le transfert technologique

Dans la période d'après-guerre, le développement technologique français reposait sur le transfert d'innovations scientifiques vers les grosses structures industrielles, essentiellement sous forme de cessions de licences d'exploitations de brevets dans le cadre de grands programmes d'État (aéronautique, défense, nucléaire...)

Aujourd'hui la valorisation s'est diversifiée : elle recouvre des activités multiples (prise de brevet, création d'entreprises innovantes, contrats de recherche pour l'industrie, activités de consultant) et, de plus, elle se tourne de plus en plus vers les petits et moyennes entreprises. Ceci est particulièrement vrai dans le domaine des biotechnologies où la souplesse et la capacité d'adaptation d'une petite entreprise est un atout considérable compte tenu de l'évolution très rapide des techniques.

Les outils de valorisation se sont également diversifiés pour atteindre tous les éléments du nouveau tissu industriel.

Toutes sortes de structures assurent l'interface entre le monde de la recherche et celui de l'industrie. Leurs tâches sont multiples : prospecter les laboratoires ; inciter les entreprises à innover et à embaucher des scientifiques ; offrir des services particuliers (détachement de spécialistes, contrats de sous-traitance, mise en place d'équipes mixtes de recherche) et des aides financières.

Cette multiplication des outils de valorisation a un effet négatif. Plusieurs centaines de structures de transfert technologique ont des compétences et des missions qui se recoupent souvent.

« Elles bénéficient d'un financement plus ou moins important de l'État -notamment via l'ANVAR, qui gère les aides à l'innovation depuis 1979- et des collectivités territoriales. Certains, comme les 52 Centres relais innovation (CRI) créés par appel d'offre en 1995, reçoivent même des subsides européens. Ces structures peuvent être, à des degrés divers, adossées à des organismes de recherche ou des universités, et avoir des activités plus

ou moins spécialisées. Certaines sont fédérées en réseaux, mais cela ne suffit pas à assurer leur homogénéité.

C'est par exemple le cas des centres régionaux d'innovation et de transfert de technologies (CRITT), créés en 1982 sous l'impulsion du ministère de l'Éducation nationale, de la Recherche et de la Technologie (MENRT) pour structurer le potentiel de recherche des régions sont un exemple intéressants. Il en existe aujourd'hui environ 120, de statuts (associations, groupements d'intérêt public [GIP]...) et missions très hétérogènes. La moitié d'entre eux sont spécialisés dans des domaines technologiques et possèdent parfois des équipements de recherche et développement importants ; l'autre moitié se résume à de simples « points d'appui technologiques ». Plus généralistes, ces centres ont un rôle de sensibilisation et d'orientation des PME/PMI. Les pouvoirs publics ont également créé, en 1990, un réseau de diffusion technologique (RDT), animé par l'ANVAR et auquel participe le CEA (Commissariat à l'énergie atomique), qui est aujourd'hui implanté dans 21 régions. Il permet de coordonner différentes structures régionales publiques et parapubliques de transfert. Parallèlement, de nouveaux réseaux se constituent à l'initiative des collectivités locales ou d'acteurs privés : réseau de développement industriel (RDI), réseaux de développeurs, etc.

Par ailleurs, en 1996, l'ANVAR a agréé 48 sociétés de recherche sous contrat (SRC) et assimilées, elles aussi d'initiative privée, qui font de la R&D orientée à la demande de l'industrie et ont donc un rôle de relais entre la recherche et les entreprises. Quant aux technopôles, comme Sophia-Antipolis ou Rennes-Atalante, ce sont des acteurs régionaux importants de la valorisation. Enfin, toutes ces interfaces s'ajoutent à d'autres plus traditionnelles, comme les 18 centres techniques industriels (CTI), créés en 1948 par arrêté ministériel sur proposition des organisations professionnelles, et répondant en particulier aux besoins de formation professionnelle, de prestations d'essais, de mesure et de contrôle, et de protection de l'environnement d'un certain nombre de branches professionnelles du secteur industriel et manufacturier »¹.

Henri GUILLAUME, dans son rapport sur la technologie et l'innovation, avait mis en lumière ce foisonnement et conclu que la multiplicité des structures de transfert et de diffusion technologiques nuisait à leur efficacité globale, les entreprises identifiant mal l'interlocuteur utile.

C'est pourquoi il est indispensable de rationaliser rapidement les structures de valorisation de la recherche.

¹ Dossier Valorisation. Biofutur n° 183. Novembre 1998.

◆ **Simplifier les relations contractuelles entre les organismes de recherche et les entreprises**

Les structures de valorisation précédemment décrites s'adressent essentiellement aux industriels et existent indépendamment des organismes publics de recherche.

Il existe des structures particulières de coopération entre les établissements publics de recherche et d'enseignement supérieurs et les entreprises. Elles résultent essentiellement de la loi du 15 juillet 1982 qui avait prévu plusieurs modalités de coopération telles que les groupements d'intérêt public les unités mixtes de recherche, la création de filiales et les prises de participation.

Malheureusement, la rigidité de ces structures explique leur faible succès.

En particulier, les groupements d'intérêt public (GIP), conçus pour établir des coopérations durables entre des partenaires des secteurs publics et privés sont lourds à mettre en œuvre. Leur création nécessite par exemple un arrêté interministériel d'approbation requérant la signature de plusieurs ministres : les délais qu'impliquent une telle procédure sont incompatibles avec les impératifs de rapidité économique. De fait, seuls une dizaine de GIP ont été créés.

Il faudrait multiplier ces types de coopération pour assurer de véritables échanges entre les chercheurs publics et privés. Là encore, la loi sur l'innovation allège les formalités administratives pour ces structures de collaboration (notamment en remplaçant l'arrêté interministériel par un régime d'autorisation tacite) ; elle facilite également la gestion des contrats à durée déterminée entre les établissements d'enseignement supérieur et de recherche et les entreprises, novation importante, compte tenu du succès croissant de ces collaborations ponctuelles et souples (le CNRS a passé 350 contrats de recherche avec les entreprises en 1982 et 3200 en 1996...).

◆ **Favoriser les réseaux**

Il est indispensable de faciliter les relations entre la communauté scientifique académique et le milieu industriel. Dans le domaine de la biotechnologie, la recherche-développement constitue une part importante de l'activité des entreprises. Les échanges avec les laboratoires de recherche fondamentale sont fructueux pour les deux parties.

Les grands groupes créent des consortiums réunissant universités, laboratoires publics et entreprises industrielles. Leur but est de poursuivre une recherche scientifique commune ou de mener des actions de recherche-développement servant de base à la découverte de produits nouveaux.

Ainsi, le groupe Pfizer a constitué un réseau, baptisé Pfizergen, de douze sociétés spécialisées pour la plupart dans les recherches sur le génome.

Dans le domaine de la thérapie génique, par l'intermédiaire de Gencell, le groupe Rhône-Poulenc Rorer a construit un réseau composé de plus de 18 partenaires publics et privés internationaux.

Quant au groupe Hoechst Marion Roussel, il a créé en 1997, un GIP pour favoriser une collaboration entre chercheurs du public et du privé sous l'égide du Ministère de l'éducation nationale, de la recherche et de la technologie. Ce GIP finance, pour un montant de 220 millions de francs sur trois ans, des laboratoires d'organismes publics (CNRS, INSERM, CEA, Institut Pasteur et Universités). L'objet de ces recherches est la connaissance des fonctions des gènes et la mise au point de biopuces. À l'heure actuelle 62 programmes scientifiques ont été sélectionnés.

Le Ministère de l'Éducation nationale de la Recherche et de la Technologie met en place un réseau des divers partenaires intéressés par le génome humain. Ce réseau, similaire à celui de Génoplante, a pour objectif de permettre à la France de structurer sa contribution au décryptage du génome humain et d'aller au-delà du séquençage du chromosome 14.

2.1.2. LES ORIENTATIONS DE LA RECHERCHE

Le 1^{er} juin 1999, les priorités de la recherche française ont été fixées par le deuxième Comité interministériel de la recherche scientifique et technologique (CIRST). Elles vont dans un sens favorable aux sciences du vivant : le relevé des conclusions du CIRST, précise que *« Dès 1999, quatre domaines d'actions feront l'objet d'un développement immédiat : la génomique et la « post-génomique », les technologies appliquées à la médecine, les sciences du cerveau et de la cognition, la lutte contre les maladies infectieuses »*.

RÉCAPITULATIF DES ACTIONS PRIORITAIRES LANCÉES EN 1999

Financements sur le Fonds National de la Science (FNS)
et le Fonds de la Recherche Technologique (FRT)

Les actions concertées incitatives (ACI) : elles permettent l'élaboration de programmes de recherche destinés notamment à favoriser l'émergence de disciplines nouvelles et la formation de spécialistes dans ces domaines, à encourager des partenariats public/privé et à assurer un soutien à certaines politiques publiques.

Les réseaux de recherches technologiques (RT) : ils associent des acteurs de la recherche publique et des industriels, à partir de l'identification des besoins, sur des projets porteurs de croissance et de création d'emploi.

⇒ Sciences du vivant (395 MF) :	
- Centre de génotypage (ACI)	80 MF
- Centre de séquençage (ACI)	50 MF
- Infobiogen (ACI)	15 MF
- Génoplande (RT)	60 MF
- Technologies appliquées à la médecine (ACI)	60 MF
- Microbiologie médicale (ACI)	35 MF
- Prions (ACI)	15 MF
- SIDA et paludisme (ACI)	30 MF
- Réseau de génopoles (RT)	40 MF
- Impact possible des OGM sur l'environnement (ACI)	10 MF
⇒ Sciences de l'information et de la communication (175 MF) :	
- RNRT (RT)	80 MF
- Nano et microtechnologies (RT)	55 MF
- Technologies logicielles (RT)	40 MF
⇒ Sciences humaines et sociales (85 MF) :	
- Ville (ACI)	20 MF
- Travail (ACI)	10 MF
- Cognitive (ACI)	25 MF
- Arts, sciences et technologie (ACI)	5 MF
- Réseau des MSH (ACI)	20 MF
- École (ACI)	5 MF
⇒ Sciences de la planète et de l'environnement (45 MF) :	
- Étude du système « Terre » (ACI)	10 MF
- Climat (ACI)	20 MF
- Eau et environnement (ACI)	15 MF
⇒ Énergie (20 MF) :	
- Piles à combustible (RT)	20 MF
⇒ Génie civil, architecture, urbanisme et transports (75 MF) :	
- PREDIT (RT)	65 MF
- Réseau génie civil et urbain (RT)	10 MF
⇒ Aéronautique (10 MF)	
⇒ ACI « blanche » (40 MF)	
⇒ Eurêka (50 MF)	
⇒ Concours de création d'entreprise (100 MF)	

Source : AFP Sciences n° 1189. 3 juin 1999.

De plus, le Ministre de l'Éducation nationale, de la Recherche et de la Technologie a confirmé, en septembre 1999, que la biologie constituait une priorité de la recherche française et que : « la génomique [...] recevra plus de 2 milliards de francs sur trois ans »¹.

Mais les organismes publics de recherche doivent participer encore plus qu'ils ne le font au développement des sciences de la vie. L'enveloppe consacrée à celles-ci par le CNRS est de 300 millions de francs, dont 15 millions de francs pour le programme Génome lors de sa création, puis 20 millions de francs pour l'année suivante. Pour 1999, au CNRS, le budget des sciences de la vie est, certes, en progrès de 10 % ; mais il faudrait que cette tendance s'amplifie. Le Professeur Pierre CHAMBON conseille de répartir autrement ce budget pour prendre en compte l'évolution de la science et le développement considérable de certains secteurs, tout particulièrement celui de la biologie. Il rappelle qu'aux États-Unis, en dix ans, le budget de la biologie et de la biomédecine a plus que doublé en dollars constants².

2.1.2.1. Affiner la connaissance de l'ADN et de ses « produits », les protéines

2.1.2.1.1. Les « non-gènes » du génome

L'ADN est composé d'environ trois milliards de paires de bases (A , G, C, T) mais moins de 10 % seulement de ces bases constituent les séquences nommées gènes, que les cellules utilisent pour synthétiser des protéines.

La régulation génétique

Certaines des séquences non porteuses de gènes gouvernent des fonctions essentielles, telles l'activation ou l'inhibition de gènes. En effet, toutes les protéines codées par les gènes ne sont pas synthétisées uniformément et en quantité similaire quels que soient l'instant ou le lieu de l'organisme considéré. Certaines protéines ne sont synthétisées que dans certains types de cellules comme les cellules musculaires ou les cellules nerveuses. D'autres ne sont produites qu'à certains moment du cycle cellulaire.

Ceci s'explique par la présence, sur la chaîne d'ADN de sites qui sont soit promoteurs soit répresseurs et qui régulent l'activité du gène c'est-à-dire la production de protéines.

¹ Le Monde. 22 septembre 1999.

² Entretien du rapporteur avec P. CHAMBON, professeur au Collège de France, directeur de l'Institut de génétique et de biologie moléculaire et cellulaire. Strasbourg. 11 février 1999.

Il est essentiel que les chercheurs se penchent sur l'étude de ces sites car il pourrait être plus aisé d'agir sur eux plutôt que sur les gènes pour moduler l'expression des protéines et donc soigner les maladies.

L'intérêt de cette approche est tel que des firmes s'y intéressent déjà. La société Genset a déjà procédé au clonage de séquences de régulation. La société Genelabs en Californie travaille sur le développement de petites molécules pharmaceutiques pouvant agir au niveau de ces séquences régulatrices en activant ou désactivant la séquence codante : ces molécules se lieraient directement à des séquences spécifiques de l'ADN en s'y incrustant. Elle a déjà sélectionné environ 700 séquences spécifiques d'ADN qui peuvent donner lieu à la découverte de nouvelles molécules pharmaceutiques.

Les microsatellites

Certaines régions de l'ADN non-codant sont composées de microsatellites, courtes séquences répétitives d'une combinaison particulière des quatre bases de l'ADN (par exemple : ATTCAGATTCAGATTCAG). Les généticiens leur ont récemment découvert un rôle important et de nombreuses fonctions : leur nature répétitive les rend particulièrement sujets à des augmentations ou des réductions de longueur qui ont parfois de lourdes conséquences pour l'organisme. Chez certaines bactéries pathogènes, une variation du nombre de répétitions favorise l'apparition de nouvelles propriétés et la survie en cas de modifications de l'environnement. Chez l'être humain aussi, certains microsatellites ont vraisemblablement des effets importants ; leur nombre peut atteindre 100 000 dans le génome. Actuellement les seules fonctions connues des microsatellites humains sont négatives (ils sont notamment à l'origine de maladies neurologiques). En attendant de trouver des moyens d'action sur ces microsatellites, les chercheurs devraient étudier attentivement les possibilités de les utiliser dans le domaine du diagnostic précoce.

DÉPISTER LE CANCER

« Les microsatellites amélioreront bientôt le dépistage précoce du cancer. On détecte aujourd'hui jusqu'à une seule cellule cancéreuse parmi 10 000 cellules normales en recherchant des mutations de gènes, tels les gènes p53 et ras (certaines formes de ces gènes prédisposent au cancer). Toutefois, ces mutations ne se produisent pas dans tous les cancers, ni même dans tous les cancers d'un même type.

Les microsatellites fournissent une autre méthode de dépistage précoce du cancer, car la fréquence d'augmentation ou de réduction des microsatellites est bien plus importante dans certaines cellules cancéreuses que dans les cellules normales. De telles modifications, qui portent souvent sur de nombreux microsatellites différents, sont facilement détectables. Cette méthode permet aujourd'hui de déceler une cellule cancéreuse parmi environ 500 cellules normales.

Les modifications des microsatellites dans les cellules cancéreuses furent découvertes en 1993 par Manuel PERUCHO, de l'Institut de recherches biologiques de La Jolla, en Californie. Étudiant la forme héréditaire d'un cancer du côlon, il observa que la longueur des microsatellites de cellules cancéreuses était différente de celles des cellules normales du même patient. On a ensuite montré qu'une des anomalies qui provoquait ces modifications se situe dans un gène codant une enzyme responsable de la correction de la longueur des microsatellites. La perte du gène fonctionnel augmenterait vraisemblablement la probabilité de rencontrer des erreurs non corrigées.

Enfin, Richard BOLAND, de l'Université de San Diego, et d'autres généticiens ont inséré un chromosome humain porteur d'un gène normal de réparation de l'ADN dans des cellules cancéreuses cultivées en laboratoire. Ils ont observé que le gène introduit ralentissait la fréquence de mutation des microsatellites des cellules cancéreuses.

Toutefois, les souris génétiquement modifiées nommées «knock-out » ne possèdent pas le gène codant l'une des principales protéines de réparation; elles ne vivent que peu de temps et présentent de nombreux types de cancers. Pourtant les mutations de leurs microsatellites ne sont plus fréquentes dans aucune de leurs cellules cancéreuses. L'instabilité des microsatellites semble être plus un symptôme que la cause du cancer. Ces changements ne formeraient qu'une partie des nombreuses modifications génétiques qui se produisent en cascade dans tout le génome d'une cellule, lors du processus de cancérisation.

Néanmoins, cette association est suffisamment fréquente pour que l'instabilité des microsatellites fournisse aux médecins un nouvel outil de dépistage. Des essais cliniques concluants de dépistage précoce, à l'aide de microsatellites, ont été d'abord effectués pour des cancers colorectaux et pour des cancers de la vessie. Ils sont aujourd'hui utilisés pour de nombreux autres types de cancers. Cependant, ces tests ne sont encore utilisés que dans des recherches. On espère qu'ils serviront aussi à déterminer le type de cancer dont souffrent les malades. »

(1)

2.1.2.1.2. La protéomique

L'intérêt principal de l'acquisition de nouvelles connaissances sur les génomes est de permettre de mieux cerner la formation des protéines, leur fonction et leur structure. Cette étude des protéines, la protéomique, doit être réalisée au fur et à mesure des progrès de la génomique.

« La recherche académique doit prendre le relais de l'industrie. Cette décennie a connu des progrès scientifiques inimaginables, mais il y a

¹ « ADN et évolution » Richard MOXON et Christopher WILLS. Pour la Science, n° 257. Mars 1999.

sûrement trop d'entreprises qui s'occupent de cartographier le génome humain et pas assez qui s'intéressent au fonctionnement de la cellule. »¹

◆ Mieux comprendre l'épissage

Épissage, un terme peut-être inapproprié, est la traduction du mot anglais « *splicing* ». Il désigne un processus génétique un peu complexe. Au niveau du gène, l'information génétique est fragmentée en segments d'ADN appelés exons, que l'on retrouve au niveau de l'ARN messager, séparés par des segments d'ADN sans correspondance dans l'ARN messager, les introns. Au début de la transcription de l'ADN, l'ARN prémessager subit une série de modifications qui conduisent à la mise bout à bout des exons et à l'élimination des introns. Ce processus est appelé épissage ; il n'est pas figé et n'aboutit pas toujours au même résultat. Suivant la façon dont les exons se réorganisent (certains sont parfois éliminés), les ARN messagers sont différents, alors qu'ils sont issus de la même séquence d'ADN. Un gène peut coder une protéine différente de celle à laquelle l'information génétique de base devrait donner naissance. Des dysfonctionnements de l'épissage peuvent avoir des conséquences pathologiques.

Cette connaissance qualitative et non plus quantitative des gènes doit être approfondie, car elle présente de véritables opportunités thérapeutiques. En France, la société privée ExonHit Therapeutics travaille sur ce sujet en collaboration avec l'Institut de Génétique, Biologie moléculaire et cellulaire (Strasbourg), l'Hôpital Paul Strauss (Strasbourg) l'hôpital Cochin-Port-Royal (Paris) et le Centre de Pathologies infectieuses et immunologiques (Tours).

◆ Connaître les fonctions, les interactions et les structures des protéines

La connaissance des séquences génétiques permettra, à terme, d'établir un classement fonctionnel des protéines (les protéines régulatrices, celles qui sont douées de propriétés enzymatiques, celles qui transportent les ions, etc.).

Toutefois, cette approche classique a ses limites. Les chercheurs regroupent les gènes et les protéines correspondantes en classes fonctionnelles en se fondant sur les similitudes observées dans les séquences de leur ADN. Cependant l'on constate aujourd'hui que des gènes de séquences apparemment différentes peuvent coder pour des protéines ayant des structures tridimensionnelles et des fonctions très similaires. De plus l'approche génomique, dans la majorité des cas, permet d'établir la structure primaire, « linéaire », des protéines mais pas de prédire, à partir d'une seule séquence, la

¹ David BALTIMORE. Prix Nobel de médecine. Intervention au Forum Biovision. Lyon. Mars 1999.

structure bidimensionnelle d'une protéine. Or, la connaissance de cette structure dans l'espace est indispensable pour comprendre la fonction de la protéine au niveau atomique et étudier, par exemple les serrures physiologiques où pourrait entrer les clés que sont les molécules thérapeutiques.

Ce constat amène à émettre quelques recommandations en matière de recherche :

- Il conviendrait de tenir compte de la nouvelle stratégie élaborée par les chercheurs américains ; ils ont constaté la quasi-impossibilité d'établir les structures tridimensionnelles des protéines correspondant à l'ensemble des gènes dont on a déjà déchiffré les séquences. Ils ont alors décidé¹ de déterminer les structures d'un échantillonnage des protéines qui soient représentatives de tous les types de structures trouvées dans la nature, de manière à disposer de références générales pour l'ensemble des protéines existants. La connaissance de ces structures « chefs de file », améliorerait les programmes informatiques permettant de prédire la structure et la fonction des autres protéines à partir des séquences de leurs gènes.

- Il faut investir dans des programmes de bio-informatique permettant des comparaisons fines entre les structures des diverses protéines, sachant que ces comparaisons peuvent donner une idée des fonctions de ces protéines.

- Il faut également, au niveau de la recherche fondamentale étudier la voie de la cristallographie à haut débit. Les biopuces permettent d'assigner une fonction biochimique aux protéines ; celles-ci peuvent être synthétisées, purifiées puis cristallisées. La cristallographie à haut débit permet ensuite d'obtenir les structures des protéines en trois dimensions.

- Il convient de s'intéresser aux interactions des protéines pour connaître les fonctions de ces dernières. On peut citer en ce domaine la stratégie développée par la société française Hybrigenics, créée en 1997 grâce à une participation financière de l'Institut Pasteur. Elle vise à établir le réseau des interactions entre les protéines grâce à des techniques d'hybridation et de criblage : à partir d'une protéine « appât », elle crible rapidement l'ensemble des protéines « proies ». Elle se base pour cela sur des méthodes laboratoires, dites du « double-hybride » et du « triple-hybride ».

- Il est indispensable de développer la recherche en biologie structurale. Notre pays souffre en ce domaine d'un retard grave. Or, la génomique et la bio-informatique ne donneront les résultats thérapeutiques

¹ Nature. 1998. 279.

attendus qu'en restant liées en permanence aux données de la biologie structurale, notamment à la conformation spatiale des protéines.

2.1.2.2. Les biopuces en France

Il faut confirmer l'orientation de la recherche française vers les biopuces, compte tenu de leurs multiples applications, de la nécessité d'améliorer leurs performances et de l'attitude du principal producteur, Affymetrix. Cette firme ne fabrique pas des puces à la demande mais collabore à des projets scientifiques seulement lorsqu'ils lui paraissent intéressants. À cette politique de restriction des thèmes de recherche, Affymetrix ajoute une protection jalouse de certains brevets, notamment celui qui protège sa capacité à mettre plus de 400 séquences d'ADN par centimètre carré de surface. Pour contourner ce brevet, certaines sociétés développent des biopuces utilisant des surfaces constituées de microcuvettes. Pour Ron LONG, un dirigeant du groupe anglo-suédois Amersham Pharmacia, évoquant ce domaine précis, « *la protection de la propriété intellectuelle va être un véritable champ de mines* ».

Outre la nécessité de s'affranchir de la tutelles d'Affymetrix, celle de perfectionner les biopuces doit guider les chercheurs et les firmes française. Ces perfectionnements concernent plusieurs domaines.

◆ De la synthèse *ex situ* à la synthèse *in situ*

- L'amélioration de la synthèse *ex situ* des sondes d'ADN destinées à être fixées sur les biopuces est l'objet de recherches menées, dans le cadre du programme génome du CNRS par une équipe strasbourgeoise et par un groupe réunissant des chercheurs du laboratoire de biologie de l'École supérieure de Physique et de Chimie industrielles de la ville de Paris, de l'École normale supérieure et de l'Institut Curie.

- La synthèse *in situ* des sondes, qui représente la solution d'avenir est actuellement étudiée dans le cadre du projet ROSA intégré au programme Génome du CNRS et piloté par l'École centrale de Lyon. D'après Francis GALIBERT, responsable du programme Génome, « *le but de ce projet est de développer une méthode de fabrication de puces avec des milliers d'oligonucléotides, conçues selon la demande, en utilisant la chimie classique, qui permet de synthétiser des oligonucléotides de grande longueur. Le problème est alors essentiellement un problème de fluidique, c'est-à-dire d'adressage de réactifs et de chimie de surface* ».

Cette approche est également celle de la petite firme américaine Protogene : tout en menant leurs recherches de façon autonome, les équipes françaises doivent impérativement maintenir les contrats de collaboration avec cette société.

Après avoir, il y a quelques années, développé avec la société CIS Bio International un procédé original (MICAM, brevet 1993) de fixation des sondes par électrolyse permettant la fabrication de puces de très haute résolution, le CEA a également décidé récemment d'investir dans la synthèse *in situ*. Les chercheurs grenoblois du LETI-CEA, dans le cadre du programme AMIGO, s'attachent à faire évoluer la technologie des biopuces dans trois domaines.

- Dans l'approche issue de la microfluidique, une première évolution concerne les façons de déposer les gouttes, c'est-à-dire la dispense du liquide par des procédés issus des techniques de jet d'encre. Le LETI-CEA utilise des dispenseurs de type piézo-électrique.

- La seconde évolution concerne la préparation du substrat : la surface de la biopuce n'est plus plate mais constituée d'un substrat structuré offrant une succession de cuvettes gravées dans du silicium et préparées pour recevoir les microgouttes.

- La troisième évolution consiste à utiliser les robots de dispense non plus pour déposer des sondes précédemment synthétisées, mais des réactifs chimiques permettant de construire les sondes oligonucléiques directement sur le substrat, *in situ*. Quatre tête de dépôt sont utilisées, distribuant sélectivement les bases A, T, C ou G.

◆ La détection des hybrides

Elle permet de repérer avec quelles sondes se sont appariés les brins d'ADN mis au contact de la biopuce, c'est-à-dire ceux qui ont la séquence complémentaire. D'une manière générale, la détection des hybrides se fait grâce au marquage préalable des sondes à l'aide de produits fluorescents.

Les progrès à réaliser dans ce domaine consistent à supprimer l'étape du marquage et de procéder à une lecture directe de l'hybridation simplifiant ainsi la réalisation du diagnostic et abaissant son coût.

- Dans le cadre du programme ROSA, l'École centrale de Lyon a développé un concept nouveau dans lequel l'hybridation est détectée par mesure des variations des charges électriques provoquées par la formation d'hybrides.

« En utilisant comme récepteur de simples brins d'acides nucléiques, et en faisant des mesures systématiques à toutes les étapes de l'élaboration de la structure EDS, (Électrolyte/Diélectrique/Semi-conducteur) nous avons montré que l'hybridation de brins d'ADN induit un effet de champ dans la structure semi-conductrice sous-jacente. Le potentiel de bandes plates du semi-conducteur est ainsi lié à la répartition des charges de surface, qui varie avec l'hybridation.

S'appuyant sur ces résultats, l'élaboration d'un biocapteur détectant directement l'hybridation d'ADN est donc envisageable en utilisant un biorécepteur constitué de brins simples d'ADN, et un transducteur capable de détecter des variations de charges électriques par effet de champ, à savoir par exemple, une structure FET (Fiel Effect Transistor ou transistor à effet de champ).

Un prototype de biocapteur d'acides nucléiques appelé GenFET permettant la détection directe et in situ de séquences d'ADN a été élaboré »¹.

- Quant aux chercheurs du Département de recherche fondamentale sur la matière condensée du CEA, ils ont choisi d'utiliser, pour détecter les hybrides, les variations de poids de la biopuce. En effet, lorsqu'il s'hybride, l'ADN testé ajoute sa masse sur la puce. Mais il n'existe pas de balance suffisamment précise à l'échelle de la puce ! Les systèmes les plus précis du monde, les microbalances à quartz, peuvent peser environ 1 nanogramme, soit un milliardième de gramme, l'équivalent de 100 millions de brins d'ADN. Les chercheurs ont donc élaboré un détecteur comportant 100 millions de brins identiques où pourront s'hybrider les séquences d'ADN testées, qui joue en même temps le rôle de balance.

Il leur reste maintenant à miniaturiser l'ensemble afin que plusieurs détecteurs de ce type puissent être mis sur le même support et permettent de tester plusieurs séquences d'ADN différentes.

Cette technique n'en est qu'à ses débuts et doit être perfectionnée. Outre son intérêt intrinsèque, elle suggère deux réflexions.

- la recherche bénéficie toujours des dialogues et des collaborations entre des chercheurs d'horizons différents (en l'occurrence, recherche fondamentale sur la matière condensée et biologie...);

- il est indispensable d'encourager et de soutenir financièrement les chercheurs français essayant de trouver des technologies innovantes et originales de fabrication et de « lecture » des biopuces.

¹ « Principe de la lecture électronique de l'hybridation de l'ADN sur support solide ». E. SOUTEYRAND, J.-P. CLOAREC, C. CHICHER, J.-R. MARTIN.

2.2. POUR L'INDUSTRIE

2.2.1. LE TISSU INDUSTRIEL

2.2.1.1. L'aide aux start-up : capital-risque et bio-incubateurs

L'Europe a pris beaucoup de retard dans le secteur de la biotechnologie.

En 1998, les États-Unis comptaient plus de 1 300 entreprises de biotechnologie (ou « biotech ») représentant 153 000 emplois et plus de 13 milliards de dollars de recettes annuelles, alors qu'en Europe il n'existe que 1 200 « biotech », représentant 46 000 emplois et un chiffre d'affaires de 3,7 milliards d'euros.

On estime que, dans un proche avenir, les activités liées à la génétique au sens large du terme représenteront un marché mondial de 110 à 120 milliards de dollars et que près de 20 % des nouvelles molécules pharmaceutiques seront issues des biotechnologies.

Il est donc indispensable de renforcer la position de l'Europe et, tout particulièrement, celle de la France.

Le rapport annuel du cabinet de conseil Ernst & Young sur les biotechnologies faisait état, pour l'année 1997 d'un recul de la France, qui se situait, dans le secteur des sciences de la vie, au troisième rang européen derrière la Grande-Bretagne et l'Allemagne.

PRINCIPALES SOCIÉTÉS DE BIOTECHNOLOGIE FRANÇAISES

Société	Ville	Domaine
• Ap Cells	Paris	Immunothérapie
• Atlangene Applications	Nantes	Diagnostics moléculaires
• BioAlliance Pharma SA	Paris	Pénétration et ciblage intracellulaire des médicaments
• Bioprotein Technologies	Paris	Protéines recombinantes
• Biospace Instruments	Paris	Instrumentation biologique et médicale
• Biotech Inflection Point	Paris	R&D Pharma Biotech
• Biovector Therapeutics	Labege	Délivrance de principes actifs
• Bio X Tal	Roubaix	Biologie structurale

• Cayla	Toulouse	Thérapie génique
• Cerep	Paris	Chimie combinatoire, criblage à haut débit
• D-Genos	Angers	Diagnostic microbiologique
• Flamel Technologies	Vénissieux	Libération contrôlée de principes actifs
• Genefit	Loos-Lille	Génomique fonctionnelle
• Genopoïetic	Paris	Thérapie génique
• Genoway	Saint-Cloud	Conception de modèles de recherche
• Genset SA	Paris	Informations génomiques pour la pharmacie
• Hemox Therapeutics	Paris	Thérapie cellulaire
• Hybrigenics	Paris	Génomique fonctionnelle - protéomique
• IDM	Paris	Thérapie cellulaire pour le cancer
• Imtix-Sangstat	Lyon	Protection immunologique des greffes d'organes
• Meristem Therapeutics	Clermont-Ferrand	Protéines recombinantes à usage thérapeutique à partir de plantes
• Neurotech SA	Évry	Thérapie génique cellulaire
• Nicox SA	Valbonne Sophia-Antipolis	R&D pharmaceutique
• Proteus SA	Nîmes	Découverte de nouvelles enzymes industrielles
• Qiagen SA	Courtaboeuf	Technologies innovantes séparation / purification acides nucléiques
• Regentech	Paris	Cicatrisation et régénération cellulaire
• Syntem	Nîmes	Découverte et optimisation de nouvelles molécules bio-actives
• Transgène	Strasbourg	Thérapie génique
• Tripos Sarl	Antony	Informatique moléculaire

(1)

¹ Source : Association France-Biotech. Octobre 1999.

En 1998, on comptait en France un peu moins de 100 « biotech », la majorité de ces sociétés étant des microstructures employant moins de 10 personnes et dont la pérennité est loin d'être assurée.

Depuis un an la situation se transforme rapidement et pourrait permettre l'indispensable rebond de la France.

◆ **Le soutien financier : le capital-risque**

Le capital-risque est le meilleur moyen de financer des start-up de biotechnologie qui ne peuvent générer de profit à très court terme mais doivent, en revanche, consacrer de fortes sommes à leur budget de recherche.

En France, dans le domaine du capital-risque, 1998 a été une année de rupture.

Les fonds disponibles dans les sociétés de capital-risque ont connu une augmentation substantielle : 4 milliards de francs de capital-risque ont été levés en 1998 contre 1,5 milliards en 1997 ; il existe maintenant une vingtaine d'opérateurs de taille nationale contre la moitié l'année précédente . Près de 100 sociétés sont cotées au Nouveau Marché, contre 38 au début de 1998.

Par ailleurs, la puissance publique a manifesté sa volonté d'aider les entreprises technologiques en débloquant au premier trimestre 1999 une enveloppe budgétaire de 200 millions de francs dont la moitié est destinée à constituer des « fonds de capital-amorçage ». Ceux-ci sont destinés à être investis exclusivement dans les petites et moyennes entreprises notamment dans les « biotech ».

Enfin, l'État a constitué un Fonds public pour le capital-risque d'un montant de 600 millions de francs prélevé sur l'ouverture du capital de France Télécom, auquel se sont ajoutés 300 millions de francs apportés par la Banque européenne d'investissement (BEI). Le Fonds public pour le capital-risque est géré par la Caisse des dépôts et placé sous la tutelle d'un comité d'engagement et d'orientation, composé de représentants de l'administration et de trois chefs d'entreprise, présidé par Henri GUILLAUME, auteur du rapport « Technologie et innovation ».

Outre l'impulsion en faveur des jeunes entreprises, l'intérêt de ce fonds est l'originalité de son fonctionnement. Il n'intervient pas directement dans les entreprises mais aide à la constitution de Fonds commun de placements à risques (FCPR) qui prennent eux-mêmes des participations dans les PME. **Ainsi, l'argent public s'associe à l'argent privé pour réaliser un véritable effet de levier.** L'objectif est de faire passer le nombre de structures de capital-risque actives en France de huit à près de vingt-cinq. Ces Fonds communs de placement à risques doivent avoir un capital d'au moins 100 millions de francs ; leurs capitaux doivent être majoritairement privés ; ils

doivent s'engager à financer à hauteur d'au moins 50 % des entreprises françaises, innovantes, créées il y a moins de sept ans.

Le Fonds public pour le capital-risque et le Fonds BEI peuvent apporter 15 à 30 % des capitaux, pour des montants compris entre 15 et 90 millions de francs.

Trois catégories de FCPR ont jusqu'à présent bénéficié des fonds publics pour le capital-risque :

- des fonds nationaux d'une taille de 300 à 800 MF pouvant financer des projets lourds avec des interventions pouvant atteindre 30 à 50 MF par affaire ;

- des fonds régionaux, d'une taille plus réduite, de 120 à 200 MF, qui financeront des PME régionales avec des montants compris entre 1 et 10 MF ;

- des fonds créés par des personnes physiques, spécialistes d'un secteur, pouvant investir dans les phases d'amorçage ou de création (« *business angels* »).

Les fonds nationaux ayant bénéficié de ces mesures sont : Sofinnova, Banexi Ventures, Auriga Ventures, Siparex Ventures, Galileo Ventures, Natexis Ventech.

Le fonds Auriga Ventures, doté de 410 millions de francs, a exprimé l'intention d'investir 50 % de ses actifs dans le domaine des sciences de la vie, pour une forte majorité en France mais aussi dans le reste de l'Europe. Il a déjà décidé d'investir 14,5 millions de francs dans la société Hybrigenics, essaimage de l'Institut Pasteur, dans le cadre d'un deuxième tour international de 60 millions de francs. En terme sectoriel, Auriga Ventures privilégie les sociétés orientées vers la post-génomique, c'est-à-dire la protéomique.

◆ **Le soutien logistique : les bio-incubateurs**

L'aide financière ne suffit pas pour induire un véritable démarrage des jeunes entreprises de biotechnologie. Les start-up connaissent en effet au moment de leur naissance des problèmes matériels divers : immobiliers, juridiques, commerciaux ou de gestion.

Les incubateurs sont des structures d'accueil qui aident les créateurs d'entreprises à :

- s'installer matériellement, avec des locaux et du matériel de qualité ;
- réaliser des études de faisabilité de leur projet ;
- s'assurer de la brevetabilité de la technologie envisagée

- négocier éventuellement avec les organismes ou groupes détenteurs des brevets ;
- mener des études de marché ;
- établir un « *business plan* » ;
- trouver des collaborateurs capables d'assurer la gestion.

Les Britanniques ont mis en œuvre un tel soutien logistique depuis plusieurs années.

BIO INCUBATEURS : L'EXEMPLE BRITANNIQUE¹

« Pour faciliter le transfert de technologie du laboratoire vers l'industrie, les Britanniques ont adopté le système des bio-incubateurs. Le concept est bien plus qu'une opération immobilière visant à offrir aux start-up des locaux munis d'équipement dernier cri.

Au sein de l'incubateur, les jeunes pousses ont aussi à leur disposition toute une gamme de services d'accompagnement. Bien souvent les chercheurs qui s'improvisent entrepreneurs n'ont pas les compétences dans des domaines aussi variés que la propriété intellectuelle, le droit, le marketing, la fabrication ou encore la finance. « Notre étude de marché aux États-Unis et en Europe a révélé qu'il existe plus de 1 000 bio-incubateurs. Mais, seuls ceux qui avaient une équipe complète d'accompagnement ayant une expérience commerciale réussissent », selon David BEST, du Bioscience Innovation Centre, à Cambridge.

La plupart à l'image de l'incubateur d'Oxford-BiotechNet-, sont financés par une combinaison de fonds publics et privés. À Manchester, une partie du financement est issue du capital-risque ou de fonds d'amorçage. En invitant aussi des compagnies plus avancées dans leur développement, le directeur, Mark FERGUSSON, augmente les chances de retour d'investissement dans un délai acceptable. Enfin, pour les sociétés qui peuvent rester dans les locaux de leur université d'origine, il y a les bio-incubateurs virtuels. L'un d'eux, le Company Maker, d'Imperial College, se contente ainsi d'apporter un savoir-faire au niveau du management et du financement. »

En Allemagne, une pépinière d'entreprises accueille les start-up sur le campus de Berlin Buch. Avec un loyer inférieur à 30 francs le mètre carré, des équipements ultramodernes répartis sur 6 000 m² et une connexion à un réseau de transmission de données à grande vitesse, cet incubateur a déjà attiré plus d'une vingtaine d'entreprises.

En France, les biopôles se dotent aussi d'incubateurs. Au Génomipôle d'Évry, par exemple le bâtiment d'accueil des start-up prévoit de leur offrir « *une aide juridique à la commercialisation et à la communication d'entreprise* ».

¹ *Les biopoles font bouger l'Europe. L'Usine nouvelle. Hors série. Mars 1999.*

C'est à ces incubateurs chargés d'accompagner les entreprises en phase de création qu'est consacrée l'autre moitié de l'enveloppe budgétaire prévue pour 1999, soit environ 100 millions de francs. Une vingtaine d'incubateurs devraient être mis en place dans l'Hexagone, au sein d'universités ou d'organismes de recherche publics. Chacun de ces lieux d'accueil pourrait héberger entre 15 et 20 start-up pendant une durée limitée.

2.2.1.2. Les biopôles

◆ Le concept de biopôle et son développement en Europe

Les biopôles sont des lieux de contact. Généralement créés autour d'un centre universitaire ou de recherche, ils réunissent autour des scientifiques une nébuleuse de sociétés qui couvrent tous les domaines des biotechnologies : entreprises de service, grands groupes pharmaceutiques, cabinets de consultation, audit, capital-risqueurs, spécialistes de la propriété intellectuelle... Le but de ces contacts multiples est de faire naître une synergie entre les différents acteurs, industriels, entrepreneurs ou chercheurs.

D'après Michel RENAUD, vice-président de l'Université d'Auvergne et fondateur du biopôle de Clermont-Limagne :

« Pour créer une entreprise, il faut un « porteur de projet ». On pense souvent aux chercheurs eux-mêmes, mais est-il vraiment souhaitable d'amputer les laboratoires de leurs meilleurs éléments ? Pour moi, les bons porteurs de projet ce sont les jeunes diplômés en général. Les « ex-post docs » notamment connaissent bien leur discipline, ils ont pour beaucoup une ouverture internationale et ils sont, plus souvent qu'on ne le pense, ouverts à l'esprit d'entreprise. Ce sont ces personnes-là qu'il faut chercher, former et encourager. [...] Mais il ne suffit pas de penser en termes de créations d'entreprise : pour que la source ne se tarisse pas, la recherche doit être développée. [...] Enfin, toujours dans l'idée d'une chaîne continue et d'une fertilisation croisée, il faut un lieu qui accueille les entreprises, mais pas seulement les PME de haute technologie. Le Biopôle Clermont-Limagne a une logique de site, presque de filière industrielle : à terme, il devra réunir toutes les entreprises nécessaires pour traiter un problème biotechnologique sous différents angles, y compris les services. »¹

Ces propos illustrent la multiplicité des acteurs susceptibles de collaborer pour qu'un biopôle réalise la nécessaire synergie entre le monde de la science et celui des entreprises. On peut ajouter que le rôle d'un biopôle est aussi, en favorisant la proximité de tous les acteurs, qu'ils soient scientifiques,

¹ Courrier ANVAR. N° 113. Septembre 1998.

industriels confirmés ou créateurs de start-up, de permettre le transfert de ce que l'on appelle l'information « non codifiée », le savoir tacite (« *tacit knowledge* »).

Si le nombre d'entreprises de biotechnologie en Europe reste insuffisant, son augmentation rapide (45 % en 1998) est sans conteste liée à la multiplication des biopôles en Europe.

De nombreux centres nationaux sont nés :

- En Grande-Bretagne : Cambridge, Oxford, Edimbourg ;

- En Allemagne : Munich, Rhénanie (Cologne, Düsseldorf, Wuppertal, Aix-la-Chapelle, Jülich), Triangle Rhin-Neckar (Heidelberg, Ludwigshafen, Mannheim), Berlin-Brandebourg, Iéna ;

- En Irlande : Dublin ;

- Aux Pays-Bas : Leiden-Wageningen ;

- En Belgique : bio-Flandres et Louvain-La-Neuve/Bruxelles-Sud/Charleroi ;

- En Finlande : Turku ;

- En Italie : Milan.

Au niveau de la Communauté européenne, on peut noter :

- que les biopôles bénéficient d'aides financières (ainsi, au biopôle de Clermont-Ferrand, le Fonds européen de développement économique régional a financé pour moitié les coûts de création de cinq nouveaux laboratoires) ;

- que le rassemblement des start-up au sein des biopôles permet une meilleure coordination de leurs activités, notamment pour répondre à des appels d'offres européens.

En France, les quatre principaux biopôles sont le Génopôle d'Évry, Clermont-Ferrand, Lille Eurasanté et Montpellier.

GÉNOPÔLE¹

- **Dominante** : génomique
- **Principales bases de recherche** : Généthon, Centre national de séquençage, Centre national de génotypage
- **Nombre de PMI innovantes** : 8
- **Leaders** : Genset, Département génomique de Rhône-Poulenc Rorer, Neurotech, Visible Genetics/ACT Gene, Cybergène/ESGS, Novagali
- **Atouts de développement** : volonté publique de faire du Génopôle le pôle génomique français ; neuf installations de start-up prévues ; concentration scientifique et économique de la région parisienne

CLERMONT-FERRAND¹

- **Dominante** : filière agro-alimentaire
- **Principales bases de recherche** : premier centre de province de l'INRA, laboratoires INSERM et CNRS, Centre de recherche en nutrition humaine, Université d'Auvergne
- **Nombre de PMI innovantes** : 15
- **Leaders** : GreenTec, Genolife, Meristem Therapeutics
- **Atouts de développement** : présence de Limagrain ; stratégie du pôle ; mise en réseau des centres de Clermont-Limagne, de Vichy (cosmétique-parapharmacie) et Aurillac (environnement-agro-alimentaire)

LILLE EURASANTÉ²

- **Dominante** : santé
- **Principales bases de recherche** : Institut Pasteur Lille, CHRU, Institut de chimie pharmaceutique
- **Nombre de PMI innovantes** : 10
- **Leaders** : Cerep, PIL-Biovector Therapeutics
- **Atouts de développement** : dynamisme et originalité des projets (Genfit)

MONTPELLIER¹

- **Dominante** : expertise dans la génomie du riz et dans la recherche sur le cancer
- **Principales bases de recherche** : Génotrop de l'Orstom-IRD, Laboratoire du Cirad, Laboratoire de biologie moléculaire et cellulaire du CNRS, Laboratoire des biotechnologies de l'environnement, Université de Montpellier I
- **Nombre de PMI innovantes** : 6
- **Leaders** : DNA, Vitropic, Mycos
- **Atouts de développement** : dynamisme ; plusieurs projets d'incubateurs ; ouverture prochaine d'une pépinière dans les biotechnologies

¹ L'Usine nouvelle. *Hors série. Mars 1999.*

² L'Usine nouvelle. *Hors série. Mars 1999.*

◆ Sélection et coopération des biopôles

S'il est indispensable de favoriser la création de biopôles, il convient de le faire dans les meilleures conditions possibles, en pratiquant la sélection et en organisant la coopération.

- **La sélection** : Elle est indispensable pour que les crédits de soutien ne soient pas disséminés, donc inefficaces, et pour que la « labellisation » des biopôles corresponde à une véritable excellence, reconnue à l'extérieur.

En France, elle sera effectuée en automne 1999 dans le cadre d'une des actions concertées incitatives (ACI) créées par le Conseil interministériel sur la recherche et la technologie. Plusieurs sites parisiens et huit villes de provinces concourent à l'appel d'offres (Bordeaux, Lille, Strasbourg, Lyon, Grenoble, Marseille, Montpellier et Toulouse).

Afin de réaliser cette sélection dans de bonnes conditions, il serait souhaitable de prendre en considération les méthodes utilisées par les Allemands dans le cadre du programme Bioregio : en 1995, le Ministère fédéral allemand pour l'enseignement, la recherche, la science et la technologie a lancé un concours appelé Bioregio afin d'accélérer le développement industriel des biotechnologies.

Le ministère entendait ainsi encourager la coordination de toutes les sources de financement de recherche-développement et la création d'entreprises en synergie régionale dans ce domaine. Les régions devaient formuler leur stratégie et les objectifs de leurs recherches tout en faisant état du potentiel biotechnologique régional. Trois dossiers (sur dix-sept) ont été sélectionnés par le jury constitué de membres issus de l'industrie, de la recherche scientifique et des organisations syndicales : celui de la Rhénanie, du triangle Rhin-Neckar et de Munich (à cela s'est ajouté un prix exceptionnel obtenu par la biorégion Iéna) : les trois régions « gagnantes » se sont vu accorder, chacune, 50 millions de DM sur cinq ans, ces moyens devant leur permettre de mobiliser le plus possible de financements privés.

La participation de l'État français, pour l'année 1999 est moins importante mais elle s'inscrit dans la durée. Afin d'être vraiment efficace l'action des pouvoirs publics doit se situer dans une optique précise :

- **Cette action concertée incitative doit être l'occasion de dresser un inventaire aussi exhaustif que possible des atouts de chaque région dans le domaine de la génomique (infrastructure, organismes de recherche, possibilités de financement privé, opportunités industrielles, incubateurs, réseaux informatiques...).**

Cet inventaire sera en effet indispensable aux régions comme aux décideurs nationaux, aux groupes industriels et financiers, et aux

organismes internationaux qui ne peuvent eux-mêmes recenser toutes les possibilités offertes par les régions dans un domaine précis mais ont besoin de ces éléments pour leur confier la réalisation de programmes (c'est le cas de la région de Montpellier et d'un programme de la Banque mondiale).

- Le recours à des experts internationaux pour l'évaluation des dossiers présentés par les régions doit être systématique afin, bien sûr de profiter de leur expérience et de leur impartialité mais aussi de faire en sorte que la labellisation « biopôle » des régions sélectionnées soit reconnue internationalement.

- La coopération

- au niveau national : elle est indispensable pour que les biopôles sélectionnés aient un effet d'entraînement sur les autres. Elle passe bien entendu par l'utilisation de réseaux informatiques mais également par l'accueil, au sein des biopôles, des start-up n'ayant pas trouvé d'incubateur local.

- au niveau européen : elle constitue le meilleur moyen de parvenir à des biopôles de taille suffisante pour se mesurer aux sites américains. Elle existe déjà dans la péninsule scandinave : la Medicon Valley regroupe le Danemark et la Suède, et constitue le troisième centre de recherche en biotechnologies en Europe. Une autre initiative particulièrement intéressante est la Biovalley qui regroupe l'Alsace, le Bade-Wurtemberg et le Nord-Ouest de la Suisse. L'objectif de la BioValley est d'atteindre la taille critique d'un pôle de niveau mondial.

BIOVALLEY

L'espace central du Rhin Supérieur -Alsace, Bade-Wurtemberg, nord-ouest de la Suisse- réunit l'ensemble des composantes favorables au développement d'un pôle majeur des biotechnologies en Europe : excellence des centres de recherche, présence de grands groupes industriels, secteur en forte croissance.

BioValley, dont l'initiative a été lancée officiellement en 1996, recense déjà plus de 300 partenaires potentiels : entreprises, institutions, organismes, tri-nationaux de développement économique, organismes financiers, universités, centres de recherche, centres de transfert de technologies.

Le réseau BioValley se mobilise **pour atteindre la taille critique d'un pôle de niveau mondial** dans le domaine des biotechnologies en :

- favorisant les alliances entre partenaires européens ;

- encourageant les alliances entre partenaires européens ;
- facilitant l'accès des jeunes entreprises au capital-risque ;
- identifiant les travaux de recherche académique susceptibles d'être valorisés ;
- accélérant le transfert de technologies.

Actuellement, le concept BioValley devient réalité grâce à la diversité des services et des prestations proposées :

- **Un réseau trinational « Vie et Santé »** avec des partenaires dans les trois pays impliqués ;
- **BioValley Promotion Team** pour la coordination des activités au sein du réseau ;
- **Tables rondes** : rencontres mensuelles à Bâle, Fribourg et en Alsace ;
- **BioValley « Easy Access System »** : accès simple et facile aux contacts du réseau, que ce soit de l'intérieur ou de l'extérieur de la BioValley ;
- **Fonds d'expertise BioValley** : aide au financement pour les chercheurs souhaitant créer leur propre entreprise et aide à l'élaboration d'un business plan afin de faciliter les contacts avec les financiers ;
- **Guide BioValley** : annuaire de tous les partenaires de la BioValley ;
- **BioValley Technology Watch** : la BioValley « Promotion Team » en collaboration avec d'autres institutions mettent en place une veille technologique en biotechnologie ;
- **Site Internet** : <http://www.biovalley.com> : présentation de BioValley, partenaires de BioValley, forum et *newsgroups*, base de données ;
- **Point de rencontre BioValley** : événements, séminaires, rencontres et conférences ;
- **Foires et congrès** : participation de la BioValley du Rhin Supérieur aux foires, salons et congrès ;
- **BioValley Bridges** : conférences multidisciplinaires et rapports pour l'harmonisation des normes et législations entre les régions de la BioValley, en se basant sur les directives européennes ;
- **Formation continue** : rencontres et séminaires de formation proposés par les organismes de formation continue et initiale de la BioValley ;
- **BioValley Universities Partnership Programm** : programme d'accompagnement des universités, afin de favoriser la création d'entreprises et la collaboration universités-entreprises.

(1)

¹ Source : Association Alsace Biovalley.

2.2.2. LES BREVETS

2.2.2.1. Aspect juridique : le champ de la brevetabilité

◆ Le texte de base pour la Communauté européenne : la directive de juillet 1998

La directive 98/44 du Parlement européen et du Conseil, du 6 juillet 1998¹, relative à la protection juridique des inventions biotechnologiques a été adoptée après dix années de tergiversations. Le nombre de considérants qui l'accompagne (cinquante-six considérants pour dix-huit articles) prouve combien les termes de cette directive ont été pesés et ont fait l'objet de compromis.

Elle a cependant le mérite d'être très explicite.

Elle rappelle la distinction fondamentale entre les *découvertes*, par essence non brevetables et les *inventions* qui, seules, le sont. Elle confirme la non brevetabilité du corps humains aux différents stades de sa constitution et de son développement. De même, la simple découverte d'un élément du corps humain dans son environnement naturel, « *y compris la séquence ou la séquence partielle d'un gène* » ne peuvent constituer des inventions brevetables.

En revanche, un élément isolé du corps humain, dès lors qu'il est le résultat de procédés techniques visant à l'identifier, le purifier, le caractériser et le multiplier est brevetable « *même si la structure de cet élément est identique à celle d'un élément naturel* »².

Par exemple, le travail d'identification d'un gène nécessitant l'intervention de la technologie humaine ne constitue pas une simple découverte et peut être breveté s'il remplit, par ailleurs, les conditions classiques de brevetabilité : l'application industrielle d'une séquence génétique partielle ou complète doit obligatoirement être concrètement exposée dans la demande de brevet. Une simple séquence d'ADN sans indication de fonction ne peut être brevetée.

¹ Elle devra être transposée dans le droit national des États membres au plus tard le 30 juillet 2000.

² Article 5 de la directive 98/44.

Certains considérants relatifs à l'article 5 apportent des éléments précis d'information :

« (20) considérant, en conséquence, qu'il est nécessaire d'indiquer qu'une invention qui porte sur un élément isolé du corps humain ou autrement produit par un procédé technique, et qui est susceptible d'application industrielle, n'est pas exclue de la brevetabilité, même si la structure de cet élément est identique à celle d'un élément naturel, étant entendu que les droits conférés par le brevet ne s'étendent pas au corps humain et à ses éléments dans leur environnement naturel ;

(21) considérant qu'un tel élément isolé du corps autrement produit n'est pas exclu de la brevetabilité puisqu'il est, par exemple, le résultat de procédés techniques l'ayant identifié, purifié, caractérisé et multiplié en dehors du corps humain, techniques que seul l'être humain est capable de mettre en oeuvre et que la nature est incapable d'accomplir par elle-même ;

(22) considérant que le débat sur la brevetabilité de séquences ou de séquences partielles de gènes donne lieu à des controverses ; que, aux termes de la présente directive, l'octroi d'un brevet à des inventions portant sur de telles séquences ou séquences partielles doit être soumis aux mêmes critères de brevetabilité que pour tous les autres domaines technologiques, nouveauté, activité inventive et application industrielle ; que l'application industrielle d'une séquence ou d'une séquence partielle doit être exposée de façon concrète dans la demande de brevet telle que déposée;

(23) considérant qu'une simple séquence d'ADN sans indication d'une fonction ne contient aucun enseignement technique; qu'elle ne saurait, par conséquent, constituer une invention brevetable ;

(24) considérant que, pour que le critère d'application industrielle soit respecté, il est nécessaire, dans le cas où une séquence ou une séquence partielle d'un gène est utilisée pour la production d'une protéine ou d'une protéine partielle, de préciser quelle protéine ou protéine partielle est produite ou quelle fonction elle assure. »

◆ La jurisprudence

- La jurisprudence européenne a montré les difficultés qui pouvaient surgir lorsqu'on tente d'appliquer les règles classiques de brevetabilité aux sciences du vivant, notamment pour la définition de « l'invention » et de la « découverte ».

En 1991, le Howard Florey Institute avait obtenu, de la part de l'Office européen des brevets (OEB), un brevet portant sur un fragment

d'ADN codant pour une protéine humaine, la Relaxine H2. Cette protéine, sécrétée par les femmes enceintes pour atténuer les contractions, a un intérêt thérapeutique évident.

Le brevet accordé fit l'objet d'une procédure d'opposition qui permit à la division d'opposition de l'OEB de rendre une décision importante le 8 décembre 1994 : elle a jugé que l'invention de la Relaxine H2 remplissait les conditions de nouveauté et d'activité inventive, considérant qu'il s'agissait d'une substance naturelle isolée pour la première fois et dont l'existence était inconnue auparavant ; elle a estimé que cette substance ne pouvait s'assimiler à une découverte dans la mesure où un procédé permettant de l'obtenir et de la caractériser convenablement par sa structure avait été mis au point, soulignant ainsi l'importance, pour la brevetabilité de l'intervention humaine permettant de révéler une chose jusque-là ignorée dans la nature¹. Cette décision n'avait pas, alors, fait l'unanimité.

La clarté de la directive européenne, précisant qu'une simple séquence d'ADN sans fonction n'est pas brevetable, devrait permettre aux diverses instances juridiques des États membres d'harmoniser leur jurisprudence.

- La jurisprudence américaine est beaucoup moins claire.

• La notion d'utilité nécessaire à l'obtention d'un brevet laisse à penser que l'on ne peut pas breveter un gène dont l'utilisation pratique n'est pas précisée. Sur cette idée se fondait le rejet, par l'Office américain des brevets, des demandes formulées en 1991 et 1992 par Craig VENTER, l'un des responsables du programme américain de séquençage du génome humain. Celui-ci avait déposé, pour le compte des Instituts nationaux de la santé (NIH), une demande de brevet sur plusieurs centaines de gènes humains. Dans un premier temps, l'Office américain des brevets a rejeté cette demande pour « défaut d'utilité » de ces gènes ; mais, les NIH ayant décidé, devant l'émoi de la communauté scientifique, de ne pas aller au terme de la procédure, la jurisprudence américaine est restée imprécise.

• La confusion a même été accentuée par une récente décision de l'Office américain des brevets, qui a accordé à la société Incyte le premier brevet sur des EST. Les EST (*Expressed Sequence Tags*) sont de courtes séquences d'ADN utilisées pour « étiqueter » les gènes et permettre de décoder de longues séquences d'ADN.

Les EST n'ont aucune fonction biologique précise. L'Office américain a cependant admis qu'un EST pouvait être utile si les applications potentielles

¹ La protection juridique des inventions biotechnologiques après l'adoption de la directive européenne. Laurence TELLIER-LONIEWSKI. Gazette du Palais. 21 janvier 1999.

étaient suffisamment décrites : identification de gènes ayant eux-mêmes une fonction connue, cartographie chromosomique.

Dans ces conditions, le problème est moins celui de la brevetabilité que celui de la portée du brevet. En effet, la crainte principale des chercheurs est que le « propriétaire » d'un EST n'ait également des droits sur le gène complet séquencé grâce à l'outil que constitue l'EST.

Certes, accorder des droits sur un gène de fonction inconnue, en s'appuyant sur des droits reconnus sur un sous-ensemble du gène, ne serait pas conforme au droit américain des brevets¹.

Mais cette décision de l'Office américain des brevets va donner lieu à des batailles juridiques pouvant avoir des solutions différentes selon les instances saisies.

2.2.2.2. Aspect économique : l'impact des brevets

L'initiative prise le 15 avril 1999 par les plus grands groupes pharmaceutiques mondiaux change la donne économique en matière de brevets sur le génome.

Sous l'égide de Novartis, les groupes AstraZeneca, Bayer, Bristol-Myers Squibb, Hoffmann-La Roche, Glaxo-Wellcome, Hoechst Marion Roussel, Pfizer, Searle et SmithKline Beecham se sont associés à cinq grands laboratoires publics directement impliqués dans la recherche sur le génome humain : Whitehead Institute (MIT) for genome research, Sanger Center (Wellcome Trust), Cold Spring Harbor Laboratory, Stanford Human Genome Center, Washington University School of Medicine.

Le but du SNP Consortium ainsi constitué est l'établissement d'une carte de marqueurs génétiques du polymorphisme. Les SNP (*Single Nucleotide Polymorphism*) sont des sites du génome présentant des variations d'un seul nucléotide. La connaissance des SNP, qui sont répartis de façon homogène sur le génome (1 pour 1000 bases environ) devrait accélérer la localisation des gènes associés aux pathologies.

Le SNP Consortium a pour objectif d'identifier, parmi les 3 milliards de paires de nucléotides formant le génome humain, environ 300 000 SNP. Les chercheurs pourront ensuite comparer les cartes de SNP obtenues chez des

¹ « Patent on gene fragments sends researchers a mixed message ». Tony REICHARDT. Nature. Vol. 396. Dec 1998.

personnes non malades avec celles de groupes de personnes souffrant de telle ou telle affection.

Cette comparaison permettra de réaliser les génotypages nécessaires au développement de nouvelles pistes diagnostiques et thérapeutiques.

Or, les responsables du consortium n'envisagent pas, semble-t-il, de garder pour eux ces précieuses informations ni de les faire breveter. Ils ont indiqué, en effet, que les informations issues de leurs recherches seraient immédiatement rendues publiques et mises à la disposition de l'ensemble de la communauté scientifique internationale. Mais leur démarche n'est pas exclusivement philanthropique, malgré certaines déclarations : « *Notre mission consiste à rendre largement accessible un important outil de recherche qui fera progresser notre compréhension des processus des maladies et, par extension, le champ de la médecine humaine* »¹...

Leur but est surtout de partager le risque financier et de réduire la duplication des efforts de recherche qui résulteraient d'une situation où chaque grand groupe pharmaceutique chercherait à établir pour son propre compte des cartes de SNP.

Enfin, leur démarche vise à ne pas dépendre entièrement de plus petites sociétés, propriétaires de l'information génétique. En effet, les principales sociétés de génomique (Celera, Affymetrix, Millenium Pharmaceuticals, Incyte aux États-Unis et Genset en France) consacrent des sommes très importantes à l'établissement de cartes des SNP afin de faire breveter au plus vite leurs découvertes et de vendre ces informations aux grands laboratoires pharmaceutiques.

Dès lors que les cartes de SNP seront du domaine public, l'impact des brevets va se déplacer pour aller en aval : les sociétés de génomique ne pourront plus vendre des données brutes. C'est ce qu'expose le président directeur général de Genset, Pascal BRANDYS : « *Il est certain que les SNP seront un jour accessibles à tous ; mais nous n'avons pas attendu pour nous engager dans les étapes suivantes. Nous développons des technologies de génotypage et l'analyse biostatistique pour relier génotypes et phénotypes* ».

¹ Déclaration d'Arthur HOLDEN, président directeur général du SNP Consortium. 15 avril 1999.

Au niveau français, il serait utile de mettre en place, à l'Institut national de la propriété industrielle, sous la tutelle du secrétariat d'État à l'Industrie, une cellule de réflexion à laquelle participeraient des responsables des entreprises de génomique. Cette cellule aurait pour mission de donner rapidement aux décideurs politiques, aux chercheurs, responsables des biopôles et aux industriels de tous niveaux impliqués dans la recherche génomique, des informations sur :

- les conséquences de la création du SNP consortium dans le domaine des brevets ;

- les possibilités de réorientation de la stratégie en matière de brevetabilité de l'information génétique.

2.3. POUR LA SOCIÉTÉ

2.3.1. LA FORMATION PROFESSIONNELLE

2.3.1.1. Les biologistes

Voici quelques recommandations pour adapter la formation des biologistes aux nouveaux besoins :

- **Favoriser l'éclosion de « vocations » pour la biologie :** il conviendrait, dans cette optique, d'offrir à tous les étudiants de médecine et de pharmacie qui ne sont pas reçus au concours de fin de première année, à cause du *numerus clausus*, la possibilité de passer directement en deuxième année du DEUG de biologie, à condition d'avoir obtenu soit une moyenne de 10 dans toutes les matières enseignées en première année de médecine ou de pharmacie, soit une moyenne de 12 en biologie. Des passerelles de ce type existent aujourd'hui mais :

- elles sont inégalement mises en œuvre en fonction des différentes facultés ;

- elle ne tiennent pas compte de façon spécifique de la note en biologie ;

- elles ne font pas toujours l'objet d'une information bien diffusée chez les étudiants ;

- elles offrent un nombre limité de places générant un « gâchis » intellectuel considérable. Il serait très profitable, en effet, aux facultés de biologie, de recruter ces étudiants qui ont suivi une formation scientifique au cours de leur première année de médecine ou de pharmacie.

- **Encourager l'enseignement de la biologie dans les universités situées près des biopôles.** Ainsi, l'Université d'Évry a créé un DEUG de sciences de la vie, une licence de biologie moléculaire et physiologie, ainsi qu'une maîtrise de biologie moléculaire (mention génétique humaine) ; elle envisage aussi d'orienter vers la biologie certaines matières déjà enseignées comme l'informatique ou les mathématiques. Ce type d'initiative favorise considérablement la synergie entre les universités et les biopôles.

- **Instituer une option « informatique » dans tous les cursus de biologie** afin de faciliter le dialogue entre biologistes et informaticiens et,

éventuellement, de susciter des vocations de bio-informaticiens chez certains biologistes.

- Créer des écoles doctorales de biologie qui proposent des spécialisation en GÉNOMIQUE, BIOTECHNOLOGIE, BIOLOGIE STRUCTURALE, RECHERCHE THÉRAPEUTIQUE et BIO-INFORMATIQUE. Les écoles doctorales sont les structures administratives chargées, au sein des universités et des grandes écoles, de l'organisation des DEA et des thèses. Depuis deux ou trois ans certaines écoles doctorales en biologie, outre leurs fonction administrative, proposent à leurs étudiants des enseignements les préparant aux métiers des biotechnologies. Mais ces initiatives ne sont pas systématiques et dépendent des directeurs de ces écoles. Sur une vingtaine d'écoles doctorales françaises, un quart ne propose aucun enseignement de ce type, alors qu'un autre quart offre un cursus très intéressant à ses étudiants.

LES ÉCOLES DOCTORALES LES PLUS DYNAMIQUES EN 1997-1998

Écoles	Nombre d'étudiants	Organisation des enseignements	Les « plus »
École doctorale « sciences de la vie et de la santé » de Toulouse	280	- 25 modules. Obligation d'en suivre 4 au choix	Biostatistiques, législation européenne
École doctorale « biochimie et biologie moléculaire » de Paris-VII	400	- 17 modules. Obligation d'en suivre 1 au choix	Protection et valorisation des recherches, cours d'économie à l'université de Paris-Dauphine
École doctorale « biologie et santé » de Vandoeuvre-les-Nancy	400	- Accompagnement sur 3 ans du thésard	Initiation à la démarche qualité
Collège d'études doctorales « sciences et santé » d'Amiens	115	- 11 modules. Obligation d'en suivre 3 au choix	Gestion de projets, création d'entreprises en collaboration avec l'UTC Compiègne

(1)

Il est indispensable de systématiser et d'officialiser la mission d'enseignement des écoles doctorales. Il faut également en créer un certain

¹ *Les nouveaux métiers des biotechnologies.* L. BOURLANDE. La Recherche. Septembre 1998.

nombre, pour les matières précitées, dans les universités situées près des biopôles. Elles devraient dispenser une double formation et permettre aux étudiants de 3^e cycle d'étudier, parallèlement à leur spécialité, des matières destinées à développer leur « culture entrepreneuriale » : veille technologique et intelligence économique, propriété industrielle, réglementation, communication, capital-risque, connaissance des marchés, gestion des ressources humaines...).

Cette double formation doit pouvoir être reconnue et il convient donc de modifier les titres universitaires décernés en fin de cursus pour que les étudiants puissent se prévaloir de cette double compétence.

2.3.1.2. Les médecins et les pharmaciens

- **À l'issue de la première année, il faut**, ainsi que cela a été exposé ci-dessus, **favoriser la reconversion en biologie.**

- **Dès le second cycle, les étudiants doivent aborder la génomique.** Cela a semblé particulièrement important à la Commission « Génétique et Pharmaciens » instituée au Conseil national de l'Ordre des Pharmaciens.

« La Commission estime qu'il est important d'organiser, au niveau de la formation commune de base des pharmaciens, un enseignement de sensibilisation à la génétique.

Actuellement, ces formations sont très disparates, que ce soit en nombre d'heures de cours ou selon les thèmes abordés.

L'enseignement est majoritairement réalisé par des professeurs de différentes disciplines.

Il semble souhaitable de fixer à la fois un minimum d'heures de formation, de définir un contenu plus précis des formations et d'en donner la responsabilité à une ou deux disciplines biologiques définies. »

Quant aux médecins, il est indispensable de leur faire connaître l'essor des tests génétiques, leur réalisation sur des biopuces et de les sensibiliser aux problèmes que posera la médecine prédictive à tous les praticiens, quelle que soit leur spécialité.

- **Au niveau du troisième cycle, comme le préconise la Commission « génétique et pharmaciens », il faudrait organiser une formation spécialisée de génétique permettant aux pharmaciens biologistes d'accéder à une formation diplômante de génétique.**

Une autre de ses propositions est également intéressante :

*« La commission souhaite pouvoir **organiser un rapprochement entre le DES de génétique, lequel n'est actuellement ouvert qu'aux médecins, et le DES de biologie médicale.** Ainsi pourraient être associés aux 4 semestres d'enseignement polyvalent du DES de biologie médicale, 4 semestres spécialisés en génétique biologique, enseignement partagé avec les étudiants du DES de génétique.*

Cet enseignement nouveau permettrait la reconnaissance, pour les pharmaciens et médecins biologistes, de compétences en génétique jusqu'à présent inexistantes. »

Par ailleurs, il convient de revitaliser la recherche sur le médicament en France et d'assurer un enseignement de haut niveau, favorisant l'application des découvertes en génomique au domaine des médicaments. Le Royaume-Uni, les Pays-Bas, la Belgique, la Suisse, l'Italie et l'Allemagne l'ont déjà fait. En France, il est nécessaire de **créer un troisième cycle de recherche sur le médicament, ouvert aux pharmaciens, aux médecins et aux biologistes.**

- Dans le domaine de la formation continue, il conviendrait de proposer des « sessions de génomique » aux médecins et pharmaciens.

Les pharmaciens biologistes devront bénéficier de cours renforçant leurs compétences dans les méthodes relevant de l'analyse des acides nucléiques (biologie moléculaire).

Quant aux 22 000 pharmaciens d'officine qui auront éventuellement à dispenser des produits d'une nature nouvelle, il devront compléter leur formation soit par des cours, soit par la consultation d'une documentation très précise. La façon dont ils se sont adaptés à la dispensation des antirétroviraux augure bien de l'avenir.

2.3.1.3. Les bio-informaticiens

- Le besoin urgent de bio-informaticiens

La formation massive de bio-informaticiens est l'enjeu majeur des années à venir. Elle est l'un des moyens que la France doit impérativement utiliser pour retrouver la place qu'elle occupait dans le secteur de la génomique au début des années 1990. L'urgence s'évalue à la lumière de l'initiative prise par les National Institutes of Health (NIH) américains pour accélérer considérablement le séquençage du génome humain dont la première ébauche sera communiquée au printemps 2000.

Une énorme quantité d'informations brutes, sans aucune annotation, sera mise à la disposition de l'ensemble de la communauté internationale. Il faut se garder d'une excessive naïveté : ces informations ne pourront être valorisées scientifiquement (articles) et économiquement (brevets) qu'après avoir été triées, comparées et analysées. Ces tâches ne peuvent être accomplies que grâce à la bio-informatique. C'est pourquoi les États-Unis peuvent faire preuve de générosité en offrant ces données brutes à la communauté internationale ; ils sont très avancés dans le secteur bio-informatique et vont accroître leurs capacités : en juin 1999, un conseil consultatif fédéral a recommandé aux NIH d'investir lourdement dans l'informatique et de créer une vingtaine de centres de formation¹.

Au niveau européen a été fondé le European Bioinformatics Institute (EBI), situé à Cambridge et placé sous l'égide du Laboratoire européen de biologie moléculaire d'Heidelberg.

Au Royaume-Uni et en Allemagne d'intenses efforts ont été faits depuis 1993.

La France a pris conscience du problème plus récemment. En 1995, a été créé un Groupement d'Intérêt Scientifique « Informatique appliquée à l'étude des biomolécules et des génomes » (INFOBIOGEN), à l'initiative du ministère de l'enseignement supérieur et de la recherche, et de l'Association française contre les myopathies.

OBJECTIFS

Les missions de INFOBIOGEN sont :

1. de développer des activités de transfert et de service visant à :

assurer la production, la maintenance, la normalisation, la mise en ligne des logiciels et banques de données thématiques produits par l'ensemble des équipes françaises travaillant dans le domaine des génomes et de la structure des molécules ;

permettre à l'ensemble de la communauté scientifique française un accès interactif aux bases de données, en particulier en développant la connexion des utilisateurs aux réseaux nationaux et internationaux et en facilitant l'accès à des données biologiques actualisées (accès aux séquences quotidiennes de l'EMBL et des autres grandes bases de données internationales) ;

fournir une assistance informatique aux équipes françaises dans leurs projets de cartographie, d'analyse de séquences et des macromolécules biologiques ;

¹ Washington Post. *ST Presse de l'Ambassade de France*. 7 Juin 1999.

mettre à leur disposition des programmes d'analyse et de recherche rapide de similitudes dans les séquences de biomolécules et de génomes.

2. d'exercer des actions de formation ;

3. de coordonner le réseau national des activités de bio-informatique et de participer à la concertation et à la coordination nationale et internationale ;

4. De favoriser la valorisation des logiciels et des banques de données biologiques produites en France ;

5. d'avoir une activité de recherche propre comportant en particulier la création de logiciels d'analyse des génomes et de biomolécules, la recherche sur les modalités de mise en relation de bases de données et le développement d'outils d'acquisition de données, de stockage et d'analyse ;

6. de proposer des méthodes d'expertise et d'évaluation dans le domaine de la bio-informatique.

PARTENAIRES DU GIS INFOBIOGEN

• Quatre EPST :

le CNRS (Centre national de la recherche scientifique) ,
l'INSERM (Institut national de la santé et de la recherche médicale) ,
l'INRA (Institut national de la recherche agronomique) ,
l'INRIA (Institut national de la recherche informatique et automatique).

• Quatre universités parisiennes :

Université de Paris V ;
Université de Paris VI ;
Université de Paris VII ;
Université de Paris XI.

• Généthon avec le soutien de l'AFM (Association française contre les myopathies)

• le MENRT (Ministère de l'éducation nationale, de la recherche et de la technologie)

(1)

Le GIS INFOBIOGEN a été doté de 15 millions de francs en 1999 au titre des actions prioritaires pour les sciences du vivant définies par le Comité interministériel de la recherche scientifique et technologique (CIRST).

Cette impulsion doit être complétée par des actions tendant à faire connaître aux informaticiens français l'intérêt de la bio-informatique et à leur offrir, dans un premier temps des formations courtes en biologie. INFOBIOGEN pourrait, par l'intermédiaire d'Internet, envoyer des messages aux écoles, IUT et facultés qui enseignent l'informatique ainsi qu'aux agences

¹ www.infobiogen.fr

de l'emploi (afin, notamment, de réorienter après janvier 2000 les informaticiens dont la tâche aura été de gérer le bogue de l'an 2000). Cette activité d'information doit être accompagnée d'un effort du système éducatif pour mettre en place des sessions courtes d'initiation à la biologie.

Compte tenu de la demande et de l'urgence, ces formations pourraient être partiellement financées par les industries pharmaceutiques et biotechnologiques.

- Les actions à plus long terme

La formation d'experts en traitement de l'information génomique doit devenir l'une des priorités de l'enseignement supérieur, cycle long et filières professionnalisées confondus. Deux types d'action peuvent être parallèlement menés :

- **permettre aux scientifiques d'acquérir des compétences informatiques de bon niveau.** Ainsi, l'Institut de formation supérieure en informatique et communication de l'Université de Rennes propose un DESS de compétence complémentaire en informatique qui accueille des scientifiques de tous horizons ;

- **proposer un module de formation « biologie moléculaire » dans tous les enseignements d'informatique :** IUT, universités, écoles d'ingénieur, afin que les informaticiens soient en mesure de dialoguer avec les biologistes pour mieux adapter leurs programmes aux recherches menées.

L'essentiel est en effet de faciliter les contacts entre deux mondes très différents mais qui sont devenus complémentaires : le domaine du vivant et celui de l'ordinateur.

2.3.1.4. La formation des citoyens

Tous les Français doivent pouvoir acquérir un minimum de connaissances sur la génétique et ses diverses applications, tant médicales qu'agro-alimentaires.

- **une « école de l'ADN » :** des initiatives de ce type ont été prises outre-Atlantique il y a plus de dix ans. La plus célèbre, le « DNA Learning Center » de Cold Spring Harbor (New-York) a eu plus de 150 000 visiteurs en dix ans et accueille 5 000 stagiaires par an.

À Nîmes, une école de l'ADN a été créée tout récemment, dans les murs du Muséum d'Histoire naturelle, à l'initiative de Philippe BERTA, professeur de biologie (détaché de l'INSERM) à l'université de Montpellier-

Nîmes. Elle s'est dans un premier temps consacrée à un public de jeunes de l'enseignement secondaire ou supérieur en proposant, dans quatre ateliers de niveaux différents, de découvrir l'ADN dans le cadre du laboratoire, avec des expériences génétiques.

Cette école de l'ADN a connu un tel succès qu'elle envisage, outre sa fonction d'information, de développer des activités de formation permanente (pour des juristes, des policiers, des industriels de l'agro-alimentaire) et de devenir un lieu de débat (bioéthique, aliments transgéniques...).

Une seconde école de l'ADN pourrait, par exemple, être créée au sein de la Cité des Sciences et de l'Industrie, dans le cadre du programme « les défis du vivant » qu'elle va lancer au printemps 2001.

• Ne serait-il pas pertinent de créer **un parc à thème, ludique et pédagogique, GÉNOSCOPIA ?...**

2.3.2. LA MÉDECINE PRÉDICTIVE

Depuis une dizaine d'années l'accélération de la connaissance des gènes impliqués dans les maladies héréditaires a permis la mise au point de nombreux tests génétiques. L'apparition de la technologie des biopuces va amplifier ce phénomène en favorisant la diffusion massive de tests bientôt peu coûteux et d'utilisation facile.

Les tests génétiques ont pour caractéristique de réaliser, notamment chez des sujets à risque, un diagnostic avant toute apparition de symptôme : on parle de tests prédictifs puisqu'ils permettent de prédire une maladie potentielle.

Leur multiplication risque de poser de sérieux problèmes et devra nécessairement s'accompagner de précautions, à prendre dans trois domaines principaux.

2.3.2.1. Précautions pour l'analyse des résultats

Les réponses fournies par les tests génétiques ne peuvent, compte tenu notamment de la complexité des gènes, de leur interaction et de l'influence sur eux de l'environnement, **être catégoriques**.

◆ Certaines mutations génétiques décelées par des tests ont des conséquences médicales très claires. Ainsi, la polypose adénomateuse familiale, responsable de 1 % des cancers colorectaux, est systématiquement corrélée à une altération du gène APC, gène suppresseur des tumeurs, situé sur le bras long du chromosome 5. Cette mutation provoque toujours la formation de polypes intestinaux, l'évolution de l'un de ces polypes au moins vers le cancer étant inéluctable.

◆ En revanche, de nombreux autres diagnostics sont moins clairs. En effet, les techniques de détection de mutation sont fiables en elles-mêmes si elles sont pratiquées correctement. Mais, souvent, elles ne permettent pas d'examiner la totalité du gène : certaines mutations peuvent alors échapper à l'investigation. Dans le cas des formes héréditaires de prédisposition au cancer du sein (5 à 8 % des cancers), les deux gènes impliqués (BRCA 1 sur le chromosome 17 et BRCA 2 sur le chromosome 13) sont très longs, et ne peuvent être, en l'état actuel de la science, totalement explorés. De plus l'analyse ne porte que sur la région codante de cette portion d'ADN et non sur les régions régulatrices du gène, dont les lésions éventuelles ne peuvent être détectées.

Le résultat d'un test portant sur les gènes BRCA 1 et BRCA 2 peut donc être :

- soit négatif : aucune mutation n'est décelée mais elles ne sont pas toutes décelables...

- soit positif : une mutation est décelée mais elle ne signe qu'une prédisposition à la maladie, celle-ci pouvant ne jamais apparaître...

De nombreux autres tests ne permettent de diagnostiquer qu'une prédisposition à la maladie : c'est le cas, par exemple, du syndrome de Huntington ou du syndrome de Lynch (HNPCC : *hereditary non polyposis colon cancer*) qui concerne 2 à 5 % des cancers colorectaux et que les mutations des gènes MSH 2, MSH 6, MLH 1, PMS 1 ou PMS 2 peuvent éventuellement provoquer.

Enfin, il faut toujours garder à l'esprit que les gènes interagissent avec l'environnement, qui peut faire s'exprimer ou non les prédispositions génétiques. On sait notamment combien le mode de vie compte dans des maladies telles que le cancer.

2.3.2.2. Évaluation de l'utilité thérapeutique des tests

◆ L'utilité thérapeutique du diagnostic est avérée lorsqu'existe un traitement médical ou chirurgical.

Cet intérêt apparaît clairement pour certaines maladies monogéniques pouvant bénéficier d'un traitement médical simple (l'hémochromatose familiale ou la fièvre méditerranéenne familiale).

Dans d'autres cas une solution chirurgicale est envisageable : pour la polypose adénomateuse familiale dont l'évolution cancéreuse est, ainsi qu'on l'a vu, inéluctable, une colectomie totale est préconisée avec un bon pronostic vital.

De même, le syndrome de néoplasie endocrinienne multiple, détecté grâce à une mutations du gène RET sur le chromosome 10 et qui se traduit par des cancers de la thyroïde et des parathyroïdes, peut être évité par un acte chirurgical préventif.

◆ La recherche de mutations génétiques a également un intérêt incontestable dans le domaine de la prévention :

- elle évite certains dépistages astreignants et pénibles : les enfants des familles à risque chez qui aucune mutation du gène APC n'a été détectée ne sont pas soumis à des coloscopies répétées ;

- elle permet de mettre en place, chez les individus dont les mutations génétiques signent la prédisposition à une maladie, des examens préventifs fréquents qui permettent de déceler une tumeur dès le début du processus de cancérisation et d'accroître ainsi considérablement l'efficacité d'un acte chirurgical. On peut citer le cas du cancer du sein ou de la prostate.

Toutefois, en dehors des cas précités de polypose adénomateuse familiale ou de néoplasie endocrinienne, il faut se garder de tout acte chirurgical préventif non justifié par la découverte réelle d'une tumeur à l'occasion d'un examen de dépistage : aux États-Unis, un test commercial de détection des mutations du gène BRCA 1, réalisé sur simple prise de sang, est proposé par Affymetrix.

Nombreuses sont les femmes américaines qui ont passé ce test, mais, hormis la connaissance de leur risque important de contracter ce cancer, il n'est pas possible de prévoir, si elles le développeront (et quand), s'il affectera le sein ou l'ovaire, sa gravité et sa curabilité, etc.

Ceci entraîne chez les familles considérées à risque des comportements psychologiques de détresse, de confusion et même une exérèse des ovaires et une mastectomie double, pratiquées « à titre préventif » chez des femmes en bonne santé, qui n'auraient peut-être jamais, malgré la présence du gène, développé de cancer.

◆ En revanche, dans bien d'autres cas, les tests génétiques n'ont qu'une fonction d'information, car aucune solution, préventive ou curative, médicale ou chirurgicale n'existe. Leur rôle est alors de lever le doute ou d'informer sur les risques de transmission du handicap aux enfants.

C'est le cas de certains cancers : le syndrome de Li et Fraumeni, par exemple, lié à une mutation rare du gène P 53 et qui induit un risque élevé de développement de plusieurs tumeurs de localisation variées.

C'est également le cas de quelques handicaps monogéniques rares (certaines surdités ou cécités) et de maladies monogéniques relativement

fréquentes : myopathies, chorée de Huntington¹ ; dans le cas de cette dernière, les tests prédictifs montrent toutes leurs limites : lorsqu'une personne est porteuse de la mutation génétique de la chorée de Huntington, elle n'a aucune certitude de développer la maladie mais elle a celle, en revanche, de ne pouvoir disposer d'aucun traitement si la pathologie apparaît... Dans de tels cas, un test génétique peut avoir des conséquences psychologiques, personnelles ou familiales catastrophiques.

Il est indispensable de veiller à ce que ces tests ne soient pas disponibles dans n'importe quelles conditions sur le marché et d'organiser une prise en charge médicale et psychologique.

La Fédération mondiale de neurologie et l'Association Internationale Huntington ont émis des recommandations précises : le test ne peut être réalisé que chez un adulte à haut risque (frère, sœur, enfant d'un malade et éventuellement petit-enfant, neveu ou nièce). La demande doit être faite en toute liberté et en-dehors de toute pression. La personne à risque doit avoir reçu toutes les informations nécessaires et, avant de prendre la décision définitive de passer le test, consulter des neurologues, généticiens et psychologues. En cas de résultat défavorable un suivi médico-psychologique peut être mis en place si la personne le souhaite.

2.3.2.3. Préserver le droit de ne pas savoir et celui de ne pas faire connaître

« Le droit à « l'intimité génétique » -la genetic privacy- va être l'une des plus grosses revendications du prochain siècle ; dans l'agenda politique et social de la plupart des pays, elle occupera la place qui fut celle de la question des droits de l'homme et des droits civiques au siècle dernier. À mesure que le nombre de victimes de diverses formes de discrimination génétique augmentera, les gens vont s'organiser afin que cette information génétique soit sous leur propre contrôle, et non exploitée par n'importe quelle institution. »²

La principale précaution à prendre en médecine prédictive est de faire en sorte qu'aucune pression ne soit exercée sur les personnes à risque pour qu'elles réalisent des tests génétiques, et que la diffusion des résultats des tests soit contrôlée : elle peut avoir des répercussions sur la famille, le travail et dans le domaine des assurances.

¹ La chorée de Huntington est une maladie neurodégénérative incurable. Elle débute en moyenne vers 40-50 ans, provoquant des mouvements anormaux, des troubles du comportement, un démente et la mort, au bout d'une quinzaine d'années.

² Jeremy RIFKIN. Dossier Biofutur., n° 181. Septembre 1998.

◆ Il faut bien peser les **conséquences des tests génétiques dans une famille**.

Si le test d'un membre d'une famille à risque ne révèle pas de prédisposition à une maladie héréditaire, les problèmes ne sont pas tous résolus pour autant. Certaines études montrent que ceux qui ne sont pas porteurs d'un gène muté rencontrent parmi les leurs des difficultés d'un autre ordre : d'une part, la « maladie » demeure dans la famille et, d'autre part, le hasard génétique qui épargne les uns et affecte les autres est mal vécu.

Si le test révèle une prédisposition à une maladie de nombreux problèmes se posent :

« Quelles sont les conséquences pour les individus de la connaissance qu'ils portent un mauvais gène ? Cette connaissance est-elle de nature à rendre le regard accusateur sur ses parents ou sur son lignage ? À écraser le désir d'enfant sous un sentiment de culpabilité ou sous un désir de normativité ? Enfin, au sein du couple, quel peut être le potentiel destructeur de la responsabilité d'un des parents dans la transmission, à un enfant gravement atteint, d'un gène d'une maladie dominante ?

Voilà quelques questions dont on peut faire l'économie. »¹

Enfin, l'information génétique n'est pas personnelle : une personne indiquant à ses proches qu'elle est porteuse d'une mutation génétique peut faire naître le doute dans l'esprit de ses enfants aussi bien que de ses parents. Une telle information peut donc avoir des répercussions graves sur les membres de la famille, à titre personnel mais aussi, éventuellement, à titre professionnel et dans le domaine des assurances si des règles de protection ne sont pas clairement définies.

◆ On peut craindre qu'à moyen terme, lorsque l'usage des tests génétiques sera plus répandu, les entreprises ne pratiquent une **sélection à l'embauche**, éliminant de certains postes les personnes atteintes d'une prédisposition génétique défavorable.

Cette pratique discriminatoire peut être présentée dans un premier temps comme un élément de médecine préventive. En France, l'Institut national de la recherche et de la sécurité pour la prévention des accidents du travail et des maladies professionnelles a consacré un rapport à « la médecine prédictive appliquée au travail ». Ces travaux ont été approuvés tant par le Comité consultatif national d'éthique que par le Conseil national du patronat français et se situent dans un cadre préventif précis : déterminer les bases

¹ Axel KAHN. *Génétique, médecine et société*. ENA Mensuel, N° 285.

biologiques et génétiques de prédisposition à certaines affections, pour éviter aux personnes qui en seraient porteuses d'être exposées à un risque supplémentaire dans un environnement professionnel éventuellement pathogène.

Il est impossible que les employeurs n'aient pas la tentation d'utiliser ces tests dans d'autres buts. Dans un souci de rentabilité, ils chercheront à améliorer l'adéquation entre l'employé et l'emploi et surtout lutter contre une perte de productivité liée à une susceptibilité anormale d'un employé à telle ou telle maladie.

Une telle dérive, socialement inadmissible, se produira inévitablement si la loi ne fixe pas des interdits.

Aux États-Unis, la discrimination génétique est déjà très répandue. Jeremy RIFKIN, dans son récent ouvrage « Le siècle biotech : le commerce des gènes dans le meilleur des mondes »¹ évoque deux études ; la première, réalisée par L. GELLER à Harvard en 1996 montre que la discrimination génétique est utilisée par les employeurs, les compagnies d'assurance, les écoles et les agences d'adoption. Dans l'autre enquête, il était demandé à des directeurs de ressources humaines et des chefs d'entreprise s'ils utiliseraient les tests génétiques quand ceux-ci seraient moins coûteux et plus répandus ; beaucoup ont répondu par l'affirmative, précisant que cela leur permettrait de mieux planifier les embauches et l'avancement...

◆ Dans le **domaine des assurances**, les problèmes de sélections génétiques sont inégaux selon les pays considérés et les risques couverts.

Aux États-Unis la situation est très hétérogène. Près de la moitié des États ont voté des lois interdisant la discrimination génétique sur le lieu de travail, pour l'assurance maladie ou d'autres types d'assurances. Mais, selon les États, ces interdictions sont plus ou moins étendues et ne couvrent pas les mêmes champs. Leur portée est donc relative. Le Congrès américain dispose de plusieurs projets de loi sur la discrimination génétique mais ils n'aboutissent pas car ils se heurtent notamment aux intérêts des assureurs qui ont clairement indiqué : « *Nous nous battons pour que les assurances aient accès à toute l'information médicale existante, sans distinction entre le dossier médical classique et l'information génétique* »²

Au Japon, l'Association japonaise de l'Assurance-Vie a présenté en 1997 un rapport sur la nécessité de communiquer aux compagnies d'assurance-vie lors de la signature d'un contrat les informations génétiques

¹ La Découverte. Paris. 1998.

² R. COORSH.. Health Insurance Association of America.

de l'intéressé, si celui-ci en a connaissance, concernant les risques d'une maladie spécifique. Ce rapport n'a pas force contraignante mais reflète l'attitude des compagnies face à l'utilisation des données génétiques.

En Europe, le Royaume-Uni occupe une place particulière. Le Gouvernement a décidé d'accepter les règles du jeu fixées par l'ABI (Association of British Insurers), dans le secteur de l'assurance-vie. Celles-ci se résument ainsi :

- quelle que soit la couverture du contrat, l'assureur ne peut obliger son client à se soumettre à des tests génétiques ;

- un client qui a effectué des tests génétiques a pour obligation de communiquer les résultats à son assureur avant la signature de tout nouveau contrat ;

- jusqu'à 100 000 livres de couverture, soit approximativement un million de francs, l'assureur ne peut pas utiliser les résultats ;

- au-delà de ce montant, l'assureur est libre d'en tenir compte ou non : en cas de prédisposition à une maladie grave, il peut augmenter la prime d'assurance ou refuser d'assurer son client.

Les autres pays d'Europe se classent en non-interventionnistes (Allemagne, Italie, Espagne et Portugal) et prohibitionnistes (Autriche, Norvège, Suède, Belgique, Pays-Bas et France).

En France, la Fédération française des sociétés d'assurance (FFSA) a décidé en mars 1999, à l'unanimité de sa commission exécutive, de renouveler pour une période de cinq ans l'engagement pris en 1994. Les assureurs se sont donc engagés « *à ne pas tenir compte des résultats de l'étude génétique des caractéristiques d'un candidat à l'assurance, même si ceux-ci leur sont apportés par l'assuré lui-même* » et à ne poser « *aucune question relative aux tests génétiques et à leurs résultats dans les questionnaires de risques* ». Ils ne demanderont pas à leurs clients de se soumettre à des tests génétiques avant de souscrire une assurance-vie et ne réclameront pas les résultats de tests éventuellement réalisés auparavant.

Pendant ce moratoire, **il est indispensable que des règles précises soient fixées par le législateur français, particulièrement à l'occasion de la révision de la loi sur la bioéthique de N° 94-654 du 29 juillet 1994.**

Il faut par ailleurs distinguer les conséquences d'une discrimination génétique par les assurances en fonction des risques couverts.

- Dans le domaine de **l'assurance-vie**, des assureurs peuvent avoir la tentation d'utiliser des informations génétiques.

Ils se protégeraient ainsi du risque « d'antisélection » ou « sélection adverse » : si un client est protégé par le « droit au mensonge » l'évaluation du risque par l'assureur est faussée. En effet, si quelqu'un, au vu des résultats d'un test génétique, découvre qu'il court un risque de décès prématuré, il peut, en cachant ces résultats à l'assureur, contracter une assurance d'un montant considérable, faussant ainsi les calculs de l'assureur.

Cet argument est discutable car dans de nombreux cas, les prédispositions génétiques à une maladie ne conduisent pas, heureusement, au développement de la pathologie. Dans ce cas si la majorité de ceux qui ont une prédisposition prouvée prend une assurance-vie surdimensionnée, les assurances ne courent qu'un seul risque : celui de voir leur bénéficiaire s'accroître...

En tout état de cause, dans le domaine de l'assurance-vie, il est indispensable d'aboutir rapidement à la rédaction de directives européennes garantissant la non-discrimination génétique tout en plaçant l'ensemble des assureurs européens dans la même situation afin de ne pas fausser les règles de la concurrence.

C'est dans cet esprit que se situe la convention de bioéthique européenne qui vise, à terme, à protéger les citoyens des quarante et un États membres du Conseil de l'Europe contre « les applications abusives des progrès biologiques et médicaux ». Cette convention, élaborée en 1994, entrera en vigueur le 1^{er} décembre 1999 car elle vient d'être ratifiée par un cinquième pays, le Danemark, en août 1999 (la lenteur de sa ratification souligne la difficulté qu'éprouvent les pays européens à prendre des positions de principe communes sur les résultats des tests génétiques personnels et l'usage scientifique de l'embryon humain).

En ce qui concerne la génétique, cette convention interdit toute forme de discrimination à l'encontre d'une personne en raison de son patrimoine héréditaire et n'autorise les tests prédictifs de maladie génétique qu'à de strictes fins médicales.

- Dans le domaine de **l'assurance maladie**, la situation est très différente si l'on se place dans un système privé ou public.

Aux États-Unis la discrimination génétique pourrait avoir des conséquences graves si les assurances privées refusent de couvrir le risque

maladie et invalidité des personnes dont les tests génétiques sont négatifs, laissant sans assurance ceux qui en ont le plus besoin.

Dans une telle situation, on peut même craindre que nombre de personnes renoncent à passer des tests génétiques, même s'ils sont recommandés par leur médecin, simplement pour ne pas risquer de perdre leur contrat d'assurance ou de payer une très forte surprime.

Dans les pays où la solidarité sociale est organisée par l'État, le problème est beaucoup moins grave.

En Grande-Bretagne, la Nuffield Foundation sur la bioéthique a rappelé, en 1993, qu'il n'y avait pas lieu de s'inquiéter tant que l'assurance santé dépendait principalement du secteur public.

En France, le système de sécurité sociale constitue la meilleure garantie contre l'exclusion de ceux qui ont des prédispositions génétiques inquiétantes. En effet, seule une assurance maladie universelle, non discriminante par essence, permettra de conserver une réelle solidarité.

CONCLUSION ET RECOMMANDATIONS

Le sujet de ce rapport, génomique et informatique, sous des titres et des approches comme des présentations différentes, a fait récemment l'objet de deux publications importantes ; l'une est due au Conseil économique et social sous le titre : « *La France au défi des biotechnologies : quels enjeux pour l'avenir* » adoptée le 7 juillet 1999. L'autre a pour origine l'Académie des Sciences avec comme titre « *Développement et applications de la génomique. L'après-génome* », présenté à la presse le 8 septembre 1999.

Il me semble que ces trois rapports se complètent plus qu'ils ne se répètent, soit par la volonté du Conseil économique et social d'embrasser plusieurs domaines marqués par les biotechnologies, de l'humain à l'agriculture en passant par l'alimentation, avec une attention particulière aux aspects « éthiques » de ce défi, soit par l'ampleur et le haut niveau scientifique de celui de l'Académie des Sciences auxquels les notes personnelles de participants prestigieux donnent une valeur inédite par leur pertinence.

Tenter d'en faire un résumé serait déplacé dans ce rapport demandé par l'Office parlementaire d'évaluation des choix scientifiques et technologiques. En présenter quelques-unes des conclusions sans développer le cheminement intellectuel comme scientifique ou technique les altéreraient trop.

Le rapport que m'a confié l'Office permet de poursuivre le but principal de cette délégation : mettre à la disposition des parlementaires les éléments de connaissance et de compréhension d'évolutions prévisibles d'une société, dans laquelle ils ont cette responsabilité spécifique qu'ils ne peuvent transférer à nul autre, contribuer à ce que la loi soit dite.

Les recommandations que je me permets de suggérer sont, me semble-t-il, une façon efficace de fournir des arguments, des éléments de réflexion et de proposition, au législateur.

LES RECOMMANDATIONS

POUR LA RECHERCHE

I. Au niveau des structures

- **Renforcer les partenariats public-privé** en les structurant dans deux directions :
 - La collaboration des chercheurs publics avec les grands groupes pharmaceutiques ;
 - La collaboration des chercheurs publics avec les petites entreprises de biotechnologies (qui ont souvent elles-mêmes noué des liens avec les groupes) ;

Le partenariat public-privé trouve tout son sens dans le processus de découverte de nouveaux médicaments : compte tenu de l'investissement (3 milliards de francs) et du temps (12 ans) nécessaire pour la mise au point d'une nouvelle molécule thérapeutique, **les grands groupes pharmaceutiques**, dont aucun ne représente plus de 5 % du marché mondial, **procèdent actuellement à une externalisation de leur recherche** (près d'un tiers du budget de recherche-développement en moyenne, contre 4 % en 1994) et ont besoin de nombreux partenaires.

- Valoriser la recherche publique, inciter les chercheurs à créer des entreprises ou à exercer des fonctions de consultant auprès des entreprises innovantes, ces consultations devant se situer un contexte de transparence. Il convient, au minimum, d'inciter les chercheurs à réfléchir aux débouchés éventuels de leurs résultats en terme de produits. **Utile dans de nombreux secteurs scientifiques, cette valorisation de la recherche publique est indispensable dans le domaine de la génomique.**

En effet, le très bon niveau des chercheurs français ne suffit pas : notre pays en a fait la cruelle expérience en **perdant, en quelques années, l'avance que d'excellents généticiens, tels que J. DAUSSET, J. WEISSENBACH ou D. COHEN lui avait donnée, dès 1990, dans la cartographie du génome humain.**

- **Favoriser les réseaux** composés de partenaires publics et privés (nationaux et internationaux), sur le modèle notamment du **réseau Génoplante.**

II. Au niveau des orientations

- Affiner la connaissance de l'ADN (zones non codantes, épissage, régulation génétique, microsatellites...) et des protéines (la **protéomique**) ; développer la recherche en **biologie structurale** ;

Les connaissances en biologie structurale et dans le secteur de la protéomique sont les seuls moyens de tirer parti des découvertes réalisées en génomique.

La protéomique doit être considérée comme une recherche prioritaire dès maintenant et avant même que le décryptage du génome humain ne soit terminé.

- Favoriser la recherche et le développement des **biopuces** en France dans deux directions : la synthèse *in situ* et la détection des hybrides.

POUR L'INDUSTRIE

I. Le tissu industriel

- Aider les start-up de biotechnologie en intensifiant les efforts réalisés depuis 1998 dans le domaine du capital-risque et en **multipliant les bio-incubateurs** ;
- **Favoriser le développement des biopôles, organiser la sélection des meilleurs et leur coopération.** Dresser un **inventaire exhaustif des atouts de chaque région dans le domaine de la génomique en recourant systématiquement à des experts internationaux** afin que la labellisation « biopôle » soit reconnue à l'étranger.

II. Les brevets

- Mettre en place à l'Institut national de la propriété industrielle une cellule de réflexion, à laquelle participeraient des responsables des entreprises de génomique, afin d'**étudier les conséquences de la création du SNP¹ Consortium en avril 1999 et de réorienter éventuellement la stratégie de brevetabilité de l'information génétique.**

¹ SNP : Single nucleotide polymorphism.

POUR LA SOCIÉTÉ

I. La formation professionnelle

- *Les biologistes :*
 - développer l'enseignement de la biologie du XXI^e siècle ;
 - Encourager l'enseignement de cette discipline dans les universités situées près des biopôles ; **instituer une option « informatique » dans tous les cursus de biologie** ; créer des écoles doctorales proposant des spécialisation en génomique, biotechnologie et bio-informatique.

- *Les médecins et les pharmaciens :*
 - Enseigner la génomique dès le deuxième cycle ; **rapprocher le DES de génétique (médecins) et le DES de biologie médicale (pharmaciens) en instituant des enseignements communs** ;
 - Créer un troisième cycle de recherche sur le médicament, ouvert aux pharmaciens, aux médecins et aux biologistes ;
 - Proposer des « sessions de génomique » aux médecins et pharmaciens dans le cadre de la formation continue.

- *Les bio-informaticiens :*
 - Essayer de **combler le besoin urgent de bio-informaticiens** en faisant connaître aux informaticiens français l'intérêt de la bio-informatique et en leur offrant dans un premier temps des **formations courtes en biologie** ; à plus long terme, permettre aux scientifiques d'acquérir des compétences informatiques de bon niveau et de proposer un modèle de formation « biologie moléculaire » dans les enseignements d'informatique afin de faciliter le dialogue entre le domaine du vivant et celui de l'ordinateur.
Le travail d'annotation des séquences ne requiert pas une formation très longue. Le développement de logiciels de repérage des gènes est plus complexe. **Les deux types de formation doivent être mis en place dès maintenant** pour couvrir l'ensemble des besoins en bio-informatique.

- *Les citoyens*

Créer une seconde **école de l'ADN**, par exemple à la Cité des Sciences et de l'Industrie ;

Créer un parc à thème ludique et pédagogique, « **GÉNOSCOPIA** »... ?

II. Dans le domaine de la médecine prédictive

- Veiller à ce que les **tests** de diagnostic génétique ne soient **pas disponibles dans n'importe quelles conditions** et organiser une **prise en charge médicale et psychologique** des individus ;
- Préserver le **droit de ne pas savoir et celui de ne pas faire connaître** : jamais un test de diagnostic génétique ne doit être imposé notamment par un **employeur** ou un **assureur**. Le législateur français devra poser clairement la règle de la **non-discrimination génétique** à l'occasion de la révision de la loi n° 94-654 du 29 juillet 1994 sur la bio-éthique. Il devra veiller en permanence au maintien d'un **système de sécurité sociale public, seul garant de la non-exclusion de tous ceux qui ont des prédispositions génétiques défavorables.**

* *

*

Les progrès de la biologie modifient et enrichissent notre compréhension des mécanismes de la vie ainsi que les modes de production d'un grand nombre de domaines : agriculture, élevage, agro-alimentaire, environnement et santé. Les domaines de la santé humaine et de la médecine sont ceux qui bénéficient le plus rapidement et profondément des apports scientifiques et technologiques nouveaux.

La France doit prendre en compte cet état de fait et mobiliser ses moyens pour que sa contribution à l'enrichissement de la connaissance soit majeure et pour bénéficier aussi, à travers ses industries, du fruit de ces progrès technologiques.

L'origine des progrès dans les sciences de la vie et de la santé humaine tient à la maîtrise des connaissances de la génétique et de ses outils

que sont la génomique, la protéomique, la bio-informatique. Dans le domaine de la recherche médicale, celui de la recherche des thérapeutiques médicamenteuses tire un plein avantage de la maîtrise de ces outils. La France, pour des raisons qui tiennent à une perception tardive de l'importance des enjeux, à un affaiblissement notoire de son industrie pharmaceutique, à des efforts insuffisants de formation des chercheurs dans ce domaine, doit maintenant faire l'effort de revenir dans le jeu.

Plusieurs rapports sont produits sur l'importance du sujet et toutes les recommandations convergent pour inciter les responsables politiques à mobiliser des moyens massifs sur les programmes de recherche, le transfert des connaissances, l'incitation à la création d'activités nouvelles dans le domaine des biotechnologies et plus particulièrement dans celui des technologies médicales et du médicament. **Elle doit se lancer sans plus attendre dans la phase post-génomique : la protéomique.**

La France a su, dans son histoire, mobiliser ses moyens pour participer pleinement aux enjeux scientifiques, techniques et industriels que représentaient, au cours de ce siècle, l'énergie et la vitesse. Les grands programmes de transport, de maîtrise de l'énergie, de l'aéronautique et de l'aérospatiale ont montré que la recherche, l'industrie et le pouvoir politique savaient, quand il le fallait, se mobiliser sur les grands enjeux. Ceux des sciences de la vie sont de même importance. Au sein de ce vaste domaine, ceux de la santé et de la thérapeutique vont occuper une place majeure dans nos sociétés. Les responsables politiques, à tous les niveaux, doivent faire l'effort de compréhension du domaine et se mobiliser pour doter notre pays des moyens de la recherche en génomique, en protéomique et en bio-informatique. C'est un domaine prioritaire. La formation des étudiants, des enseignants et des chercheurs doit prendre cette priorité et cette urgence en compte.

EXAMEN DU RAPPORT PAR L'OFFICE

L'Office parlementaire d'évaluation des choix scientifiques et technologiques, s'est réuni le mercredi 13 octobre 1999 pour examiner le rapport de M. Franck SÉRUSCLAT, sénateur.

M. Henri REVOL, président, sénateur, a remercié le rapporteur pour la qualité des informations fournies aux membres de l'Office sur la génomique et les biotechnologies, domaines qui méritent qu'on leur porte un vif intérêt tant pour les partenariats qu'ils induisent entre la recherche publique et la recherche privée, que pour les créations d'entreprises qu'ils peuvent susciter.

M. Jean-Yves LE DÉAUT, premier vice-président, député, a souligné les liens qui existent désormais entre la génomique et l'informatique. Il a rappelé les priorités de la recherche française, fixées par le Comité interministériel de la recherche scientifique et technologique (CIRST) dans un sens favorable aux sciences du vivant. Il a insisté sur la nécessité de maintenir les efforts budgétaires en faveur de la génomique et de la post-génomique. Rappelant l'excellence des travaux de l'Institut national de recherche en informatique et en automatique (INRIA), il a exprimé le souhait que, dans un biopôle au moins, la collaboration entre la biologie et l'informatique soit le résultat d'une démarche des informaticiens en direction des biologistes et non l'inverse.

Mme Michèle RIVASI, députée, a évoqué l'opportunité d'une pluridisciplinarité plus ouverte, ne se limitant pas à une coopération des biologistes et des informaticiens. Elle a mis en lumière l'urgente nécessité de prendre des mesures limitant l'accès aux résultats des tests génétiques, afin notamment que les assureurs ou les employeurs ne puissent pas en avoir connaissance.

À l'issue du débat, le rapport a été adopté à l'unanimité et sa publication autorisée.

« RÉFLEXIONS POUR L'AVENIR : CONSULTATION DANS UN CABINET MÉDICAL EN 2010 »

Faut-il proposer une charte « éthique » ?

Le recours à des médicaments génomiques entraîne-t-il des comportements nouveaux du médecin envers le malade ? Faut-il proposer une charte « éthique », sous réserve de préciser le sens de ce terme, au prétexte d'usage de copies conformes, chimiques et inertes, des composants du génome humain ?

Dans la mesure où ils ne sont que des produits chimiques corrigeant des déviations génétiques, comblant l'absence totale ou partielle d'un gène manquant, chimiquement déterminé, le médecin devrait-il avoir un comportement particulier envers celui auquel il apporte ses soins ? Ce médicament génétique a comme objet d'éviter la survenue ou d'effacer les effets d'un trouble génique détecté par comparaison entre un génome normal obtenu par décryptage portant sur les cellules somatiques à l'exception des cellules germinales, autrement dit ne corrigeant que les causes d'une maladie vécue sans intention d'en protéger une descendance ?

Mais peut-on être assuré de n'intervenir que sur eux, de maîtriser le parcours du virus vecteur, d'éviter une déviation aboutissant à un chromosome terminal ?

Cette hypothèse contraint-elle à une charte différente du serment d'Hippocrate ? Le respect du code de bonne conduite et la notion de responsabilité sans cause ne sont-ils pas les garants d'un juste exercice professionnel comme du respect des autres commandements en vigueur ? Les pratiques thérapeutiques comme les actes chirurgicaux ne sont-elles pas sujets à risques ?

L'objectif de ce rapport n'était pas la prise en compte de ces questions : éventuellement, elles pourraient être le sujet d'un nouveau rapport consacré aux « Sciences de la Vie et Droits de l'Homme ». Il trouverait une partie de son sujet dans des réponses à apporter aux préoccupations du Comité national d'éthique qui souhaite que soient clairement distingués :

« - les diagnostics présymptomatiques qui permettent de mettre en évidence l'existence d'une anomalie génétique avant les manifestations cliniques qui peuvent en résulter ; il s'agit souvent d'une maladie monogénique ; dans certains cas, une action préventive et curative peut être proposée ; dans d'autres pas (maladie d'Huntington) ;

- les diagnostics génétiques qui ont pour objet d'évaluer le risque pour la descendance de l'individu testé, soit dans le cas d'une famille « à risques » [...], soit dans le cas d'une population plus particulièrement disposée à une affection déterminée ;

- les diagnostics probabilistes de prédisposition à une maladie grave qui ont pour objectif d'évaluer chez un individu le risque de survenue de l'affection en comparaison de ce risque dans la population générale »¹.

Lors de la conférence mondiale sur la science, à Budapest, du 26 juin au 1^{er} juillet 1999, les interventions de G. KURUDJIAN, directeur de la division de l'éthique des sciences et des technologies comme de F. MAYOR, directeur général de l'UNESCO, ont donné le sentiment que le respect de la déontologie entourant les comportements professionnels, y compris demain le recours à la thérapie génique, protège efficacement et le médecin et le malade lors de leur rencontre professionnelle. Au cours de cette conférence, et notamment du débat sur « **le possible et l'acceptable -la science face à l'éthique** », les risques majeurs soulignés par les intervenants ne paraissent pas devoir entrer dans une pratique ordinaire de la vie médicale, sauf peut-être :

- les possibilités d'utilisation abusive de l'information génétique sur les individus que peut détenir un médecin ;

- l'acceptation de la modification thérapeutique des lignées germinales ;

- la connaissance du gène de l'origine d'une maladie permettant aux médecins de pratiquer le dépistage chez le fœtus ou chez l'enfant ou l'adulte, qui crée des possibilités, donc des responsabilités nouvelles.

Mais ces réponses font partie des engagements normaux de tout médecin et n'appellent pas une charte « éthique » particulière.

Des risques nouveaux

Le recours à cette thérapeutique génétique n'est pas exempt de surprises, voire même de risques, auxquels le médecin devra prêter attention :

- des effets secondaires, comme en thérapie ordinaire, peuvent se manifester ; le médicament étant une substance à action physiologique ce risque devrait être plus rare et moins spectaculaire ;

¹ *La France face au défi des biotechnologies : quels enjeux pour l'avenir ? Rapport présenté par M. ROUVILLOIS et M. LE FUR. Conseil économique et social. 1999.*

- une parfaite connaissance des effets d'un gène sera difficile à acquérir. Le gène responsable d'une maladie et identifié comme tel, peut, par combinaison d'effets avec d'autres gènes, avoir un effet protecteur envers d'autres maladies. Ainsi, la drépanocytose s'accompagne d'une protection contre le paludisme et un diabète non insulino-dépendant s'accompagne d'une résistance aux famines séculaires.

Donc, si on répare un gène, il faudra surveiller l'apparition d'effets, différents de ceux provoqués par la chimiothérapie conventionnelle où cette surveillance n'est pas nécessaire :

- l'incapacité d'être certain que le vecteur traitant ne touchera que les cellules cibles laisse possible des modifications de gène dans toutes les cellules y compris les cellules gonosomiques (c'est-à-dire porteuses de spermatozoïdes ou d'ovocytes) et de transmettre la mutation à l'ensemble de l'organisme ou même à la descendance. Ces mutations ont des effets inconnus : aucun effet ou effet tumoral voire même de mutation de l'espèce.

Un exemple : agir sur les blastes serait faire bénéficier d'un traitement plus efficace contre la mucoviscidose et plus définitif, mais les blastes, cellules à division rapide, peuvent se révéler oncogènes ; intervenir sur les cellules gonosomiques des parents pour éradiquer la mucoviscidose sera une tentation, mais sans certitude de ne pas provoquer des mutations inattendues.

- À l'étape zygotique (jusqu'à la morula par exemple), un diagnostic génétique est possible, les tentatives d'intervention pour corriger peuvent donner des mutations viables pas forcément décelables et n'étant pas sûr de leur devenir, avec le risque de créer des mutants viables donnant naissance à un être humain ayant un génome anormal.

- L'homme est capable de créer des lignées de souris hypersécrétantes en hormone de croissance qui leur donne des muscles sans commune mesure avec les souris ordinaire. On peut envisager de faire de même sur l'être humain pour créer des « super-sportifs ».

Ces diverses perspectives, et bien d'autres, invitent à confier la surveillance de la thérapie génique à des pharmacologues-cliniciens, mais aussi à des généticiens ; on ne doit pas compter sur une simple surveillance clinique et biochimique, elle doit être aussi morphologique et de l'ADN. On ne peut se contenter de l'observation des individus traités : il faut s'intéresser à leur descendance.

Le matériel technique en 2010 :

Depuis plus de 150 ans, le médecin utilise la seringue de Pravaz, depuis moins longtemps le stéthoscope a remplacé l'écoute à l'oreille collée sur une serviette blanche dans le silence de l'entourage, les appareils de radio pour scopies pulmonaires plus ou moins douteuses ont totalement disparu après avoir fait quelques ravages parmi les médecins utilisateurs et parfois les malades examinés. Les classiques indications des analyses du sang avec leurs kyrielles de mises en évidence et dosages dépassant depuis longtemps les banales glycémies, urémies ou numérations globulaires et autres signes caractéristiques de maladies restent utiles bien que moins nécessaires.

Les développements des techniques modernes ont, au cours des années, contribué au perfectionnement du diagnostic : internet, intranet, lecteurs de CD-ROM et de disquette, analyse sur goutte de sang ou d'urine, ordinateur et logiciels d'aide à la décision. Le praticien dispose d'aides techniques qui quelquefois lui font oublier de prendre le temps d'examiner son malade ; il fait, trop vite, recours et confiance à l'ECSG, l'échographie, le scanner, la RMN...

Depuis quelques années, les lecteurs de génomes ou parties de génomes sont entrés dans tous les cabinets médicaux : ils permettent la découverte de la moindre altération, voire de l'absence totale de certains gènes. La lecture nécessite une formation plus délicate, plus élaborée que celle des radioscopies classiques toujours utiles. Des laboratoires spécialisés en analyse génétique permettent une étude détaillée des risques décelables, étude suggérée par le médecin traitant demandeur.

Des interrogations angoissantes

La connaissance de chaque gène, c'est-à-dire ce qu'il produit et ce qu'il régit, devra faire partie de celle du médecin ; pourra-t-il, seul, reconnaître sur un gène la déficience d'une protéine, ou toutes autres causes d'une maladie ou devra-t-il demander une analyse à des laboratoires spécialisés comme il le fait déjà pour les composantes chimiques du sang ? Après avoir appris à lire une radioscopie, une radiographie, pourra-t-il lire une cartographie du génome humain ? Des spécialistes pour chaque chromosome, capables de déceler les causes d'une déficience seront-ils les recours ?

« Lorsque les chercheurs auront trouvé et décodé (« séquencé ») le gène responsable de telle maladie et ce qui l'active ou la désactive, les médecins devraient être en mesure de traiter la maladie en remplaçant certaines des cellules « défectueuses » du malade par d'autres dans lesquelles le gène visé sera sain... Encore embryonnaire, la thérapie génique est

coûteuse et ne réussit pas toujours. Les gènes modifiés ne sont pas transmis aux enfants du patient. Cependant la modification des gènes dans les ovules et les spermatozoïdes (cellules germinales) d'un couple pourrait éviter à leurs enfants d'être atteints d'une maladie héréditaire dont l'un des parents ou les deux seraient porteurs. Cette manipulation des cellules terminales est actuellement interdite chez l'homme dans la plupart des pays... L'acceptation de la modification thérapeutique germinale chez les êtres humains n'est-elle qu'une question de temps après une période tabou initiale, comme ce fut le cas pour la fécondation in vitro ?

La connaissance du gène à l'origine d'une maladie permet aux médecins de pratiquer le dépistage chez le fœtus -ou chez l'enfant ou l'adulte- pour déterminer si celui-ci en a hérité. Mais quelle mesure faut-il alors prendre ? Certains maladies héréditaires ne se manifestent pas avant l'âge mûr. D'autres comme la mucoviscidose, ont des effets dès la naissance. Faut-il interrompre la grossesse ? Dans la négative, faut-il dire à l'enfant qu'il est atteint de la maladie même si celle-ci est incurable ? Les compagnies d'assurance ou les employeurs doivent-ils avoir accès à l'information génétique de leurs clients ou de leurs salariés ? Si l'interruption de grossesse paraît justifiée en cas de mucoviscidose, qu'en est-il de l'hémophilie ? Et que faut-il faire si une maladie héréditaire est liée à une caractéristique désirable telle que la créativité artistique ? Qui décide de ces questions ? Où faut-il tracer la limite et quelles garanties faut-il mettre en place ? »¹

On peut supposer qu'une consultation hospitalière de cardiologie se déroulerait ainsi en 2005-2010 ² :

Jacques, 30 ans, dont le père est décédé brutalement à l'âge de 38 ans, décide d'aller à la consultation hospitalière spécialisée, lui a-t-on dit, dans la recherche des causes de mort subite.

Depuis une dizaine d'année la cardiologie a bénéficié des progrès de la génétique moléculaire permettant la compréhension des bases moléculaires comme l'identification des gènes morbides impliqués dans les arythmies et cardiopathies héréditaires et susceptibles d'être à l'origine de mort subite. Des consignes de vie et même une thérapeutique peuvent être envisagées. L'interrogatoire médical de Jacques suggère l'hypothèse d'un syndrome de

¹ In Bulletin Unesco. Compte rendu conférence mondiale sur la science, 26 juin-1^{er} juillet 1999.

² D'après les réflexions de Mme Claire RODRIGUEZ-LAFRASSE, maître de conférences des universités, praticien hospitalier en biochimie et biologie moléculaire. CHU de Lyon.

QTnt-long congénital dans lequel 3 gènes codant des canaux ioniques sont impliqués :

KvLQT 1 (gène majeur) HERG et SCN 5A, respectivement logés sur les chromosomes 11, 7 et 3.

Un génotypage en cardiologie mérite d'être envisagé pour vérifier s'il présente des anomalies à l'ECG et/ou à l'échographie cardiaque et/ou des épisodes de syncope.

L'avancée des connaissances et surtout le développement des biopuces permettent, dans le cadre de cette consultation cardiologique, de définir le statut de Jacques en terme, notamment, de risques de mort subite et même de risques d'accidents coronariens.

Jacques ayant donné son consentement, l'analyse génétique sera réalisée dans le cadre d'un bilan de départ, devant tout signe clinique évocateur.

Un prélèvement de sang est effectué et envoyé au laboratoire hospitalier d'analyses génétiques pour en extraire l'ADN suivi de l'étude d'une batterie de gènes identifiés comme responsables ou modulateurs d'une pathologie héréditaire cardiaque. Une ou plusieurs biopuces permettront l'étude des gènes impliqués dans la myocardite hypertrophique. L'analyse, entièrement robotisée, demandera moins d'une heure, alors qu'avant il fallait plusieurs semaines ; Jacques peut revenir dans 48 heures. Il quitte le service avec un peu d'angoisse.

Les résultats, sans être tout à fait rassurants, ne sont cependant pas trop alarmants.

Le gène majeur KvLQT 1 est normal ; les deux autres, HERG et SCN 5A présentant des altérations, et avec les données révélées par l'étude familiale, invitent à la mise en œuvre d'une thérapeutique atténuée, accompagnée d'un suivi médical régulier. Une prescription adaptée de bêtabloquants, dont l'effet bénéfique est connu depuis 1991, sera le seul traitement préventif.

Une visite médicale en 2010 a été récemment décrite dans une revue scientifique américaine¹

« John, un diplômé de l'enseignement secondaire âgé de 23 ans, [...] est en bonne santé mais fume un paquet de cigarettes par jour depuis six ans. Assisté d'un programme informatique interactif qui prend en compte les antécédents familiaux de John, son médecin note qu'il existe, du côté paternel, d'importants antécédents d'infarctus du myocarde et que le père de John est décédé à l'âge de 48 ans.

Pour obtenir des informations plus précises concernant ses propres risques de contracter une maladie coronarienne et autres maladies dans le futur, John accepte d'envisager une série de tests génétiques disponibles en 2010.

Après avoir consulté un programme informatique interactif qui explique les bénéfices et les risques de tels tests, John accepte (et signe la déclaration de consentement éclairé) de subir 15 tests génétiques qui fournissent des informations sur le risque de maladies pour lesquelles il existe des stratégies préventives. Il s'oppose, par contre, aux 10 tests supplémentaires concernant des troubles pour lesquels aucune intervention préventive, validée cliniquement, n'est encore disponible.

Un prélèvement d'ADN réalisé au niveau de la joue à l'aide d'un écouvillon, est envoyé pour analyse et les résultats sont retournés dans un délai d'une semaine.

¹ « A hypothetical case in 2010 ». The New England Journal of Medicine. 1^{er} juillet 1999.

RÉSULTATS DES TESTS GÉNÉTIQUES CHEZ UN PATIENT HYPOTHÉTIQUE, EN 2010

Condition	Gènes concernés*	Risque relatif	Risque pendant la durée de la vie (%)
<i>Risque réduit :</i> - Cancer de la prostate - Maladie d'Alzheimer	<i>HPC1, HPC2, HPC3</i> <i>APOE, FAD3, XAD</i>	<i>0.4</i> <i>0.3</i>	<i>7</i> <i>10</i>
<i>Risque élevé :</i> - Maladie coronarienne - Cancer du colon - Cancer des poumons	<i>APOB, CETP</i> <i>FCC4, APC</i> <i>NAT2</i>	<i>2.5</i> <i>4</i> <i>6</i>	<i>70</i> <i>23</i> <i>40</i>

* *HPC1, HPC2, HPC3* sont les trois gènes pour le cancer de la prostate héréditaire.

APOE est le gène pour l'apolipoprotéine E.

FAD3 et XAD sont des gènes hypothétiques pour la démence d'Alzheimer familiale.

APOB est le gène pour l'apolipoprotéine B

CETP est le gène pour la protéine de transfert des esters du cholestérol.

FCC4 est le gène hypothétique pour le cancer du colon familial.

APC est le gène pour polypose adénomateuse colique.

NAT2 est le gène pour le N-acétyltransférase 2.

La consultation suivante avec le médecin et une infirmière spécialisée en génétique porte sur les conditions pour lesquelles le risque de John diffère considérablement (par un facteur de plus de deux) par rapport à la population générale. Comme la plupart des patients, ce dernier est intéressé, à la fois, par son risque relatif et son risque absolu.

John est heureux d'apprendre que les tests génétiques ne donnent pas toujours de mauvaises nouvelles ; ses risques de développer un cancer de la prostate ou une maladie d'Alzheimer sont réduits étant donné qu'il porte des variantes à faible risque de plusieurs gènes dont on connaît le rôle dans ces maladies en 2010.

Cependant, John est inquiet quant aux arguments en faveur de ses risques accrus de contracter une maladie coronarienne, un cancer du colon et un cancer des poumons. Confronté à la réalité de ses propres données génétiques, il arrive à ce moment crucial où il comprend qu'un changement dans son comportement en matière de santé, tout au long de sa vie et basé sur la réduction des risques spécifiques, est possible. Et il y a beaucoup à offrir. D'ici à l'an 2010, le domaine de la pharmacogénomique se sera développé et

un traitement médicamenteux prophylactique basé sur la connaissance de John sur ses propres données génétiques peut être prescrit de façon précise permettant de réduire son taux de cholestérol et son risque de maladie coronarienne à des niveaux acceptables. Son risque de cancer du colon peut être traité en démarrant un programme basé sur une coloscopie annuelle à partir de l'âge de 45 ans, ce qui est dans son cas une manière rentable de prévenir un cancer du colon. Le risque important de développer un cancer des poumons lui apporte la motivation principale de rejoindre un groupe de soutien composé de personnes exposées à un risque génétique élevé de complications graves dues au tabagisme et il arrête de fumer avec succès.

Les perspectives d'une médecine préventive individualisée basée sur la génétique sont particulièrement passionnantes, car elle pourrait apporter une profonde contribution à la santé humaine.

Cependant, pour réaliser un tel projet, des protections efficaces contre le mauvais usage des informations génétiques doivent être en place. Par ailleurs, un autre challenge critique, sera qu'un nombre plus important de médecins, infirmières et autres dispensateurs de soins devront bien connaître le domaine émergent de la médecine génétique. »

Toutefois, l'utilisation des tests génétiques mérite réflexion et précaution.

- « - les tests génétiques ne sont et ne seront qu'une arme diagnostique de plus. Ils devront être utilisés en fonction des demandes des patients et des possibilités thérapeutiques ;*
- les tests génétiques posent et poseront des problèmes sociaux et éthiques majeurs (qui ne sont pas tous forcément nouveaux mais qui prennent là une sérieuse ampleur) ;*
- les tests génétiques seront d'autant plus mal utilisés qu'il y aura moins de politique de santé publique et d'éducation sanitaire. »¹*

¹ Jacques Dangoumau, Professeur des universités, praticien hospitalier, pharmacologie.

GLOSSAIRE

- Acides aminés :** Molécules constituant les protéines. Il en existe vingt (Alanine, Arginine, Asparagine, Acide aspartique, Cystéine, Acide glutamique, Glutamine, Glycine, Histidine, Isoleucine, Leucine, Lysine, Méthionine, Phénylalanine, Proline, Sérine, Thréonine, Tryptophane, Tyrosine, Valine).
- Chaque acide aminé est codé par une combinaison de 3 bases appelées triplet ou codon (ex : ATG ou TGC...).
- Acides nucléiques :** Macromolécules biologiques, supports de l'information héréditaire, ils portent les gènes. Il en existe deux types selon la nature du sucre qui rendent dans leur constitution : l'ADN (constituant des chromosomes) et l'ARN. Ils sont caractérisés par la succession -séquence- de nucléotides.
- ADN (acide désoxyribonucléique) :** Molécule enroulée et repliée sur elle-même, composant des chromosomes. Elle est composée de deux brins complémentaires, en vaille l'un autour de l'autre. Chaque brin est une chaîne de nucléotides. Brique élémentaire de l'ADN, un nucléotide est composé de trois molécules : un sucre simple, un groupement phosphate et une des quatre bases azotées que sont l'adénine, la guanine, la cytosine et la thymine (A, G, C et T).
- Deux brins d'ADN peuvent s'associer dans une double hélice au sein de laquelle les bases s'associent par complémentarité, A avec T et C avec G.
- Anticorps :** Complexe de protéines produites par certaines cellules du sang (globules blancs) et dont la double fonction consiste, d'une part, à reconnaître et à fixer toute molécule « antigène » produite par un corps étranger, d'autre part, à activer d'autres cellules participant à la défense de l'organisme.
- ARN (acide ribonucléique) :** Molécule très proche de l'ADN mais contenant le plus souvent un seul brin, formée d'un squelette phosphate et sucre ribose, le long duquel sont attachées des bases -adénine, ou cytosine, ou guanine, ou uracile- en séquence linéaire.

ARNm (ARN messenger) :	Molécule d'ARN dont le rôle consiste à transmettre la séquence des bases d'un brin de molécule ADN, donc son code génétique, à la machinerie cellulaire qui fabrique les protéines.
Apoptose :	Dite aussi « mort programmée de la cellule ». Elle correspond à une sorte de mort douce de la cellule par implosion, qui ne cause pas de dommages à son environnement, contrairement à la nécrose, mort violente par explosion de la cellule. Le dérèglement de l'apoptose peut conduire à l'immortalisation des cellules normalement destinées à mourir, induisant ainsi la formation de tumeurs cancéreuses.
Base :	Molécule chimique azotée qui rentre dans la composition des nucléotides de l'ADN (adénine, guanine, cytosine et thymine) ou des ribonucléotides de l'ARN (adénine, guanine, cytosine et uracile).
Chromosomes :	Structures visibles lors de la division cellulaire, les chromosomes portent et transmettent les caractères héréditaires. Composés d'ADN et de protéines, ils portent les gènes. Chez les organismes eucaryotes (être vivants dont les cellules sont pourvues de noyaux), ils sont présents dans le noyau des cellules sous forme de paires homologues, chaque chromosome existant en deux exemplaires. L'espèce humaine en possède 23 paires par cellules. Les cellules sexuelles ne contiennent qu'un exemplaire de chaque paire.
Gènes :	Segments d'ADN portés par les chromosomes, ils conservent et transmettent les caractères héréditaires. Un gène est un élément d'information ; caractérisé par l'ordre dans lequel s'enchaînent les bases nucléiques, contenant les instructions nécessaires à la production dans la cellule d'un type précis de protéine. On dit qu'un gène « code » (pour) une protéine. Chez l'homme on évalue à près de 100 000 le nombre de gènes.
Génome :	Ensemble des gènes d'un organisme. Le génome d'une cellule est formé de tout l'ADN qu'elle contient.
Molécule :	La plus petite partie d'une substance chimique qui peut exister de manière indépendante ; les molécules sont composées d'atomes.

Nucléotide :	Motif de base de l'ADN comportant trois éléments chimiques : une des quatre bases azotées (A, C, G ou T), un sucre, le désoxyribose, et un groupement phosphate. Dans l'ARN le sucre est le ribose et la base qui remplace la thymine (T) est l'uracile (U).
Oncogène :	Type de gène impliqué directement ou indirectement dans la croissance et la division cellulaire et dont une mutation peut mener, en concertation avec d'autres oncogènes également mutés, au cancer.
Plasmide :	Petite molécule d'ADN circulaire qui se réplique indépendamment du chromosome principal de la bactérie.
PCR ou RPC (« polymerase chain reaction ») :	Amplification exponentielle d'une séquence d'ADN réalisée <i>in vitro</i> à l'aide d'une enzyme et de deux « amorces » délimitant les bornes de la séquence à amplifier.
Protéine :	Molécule complexe dont le squelette est formé par l'enchaînement d'acides aminés, et pouvant avoir des fonctions aussi variées que la catalyse (enzymes), la reconnaissance d'agents étrangers (anticorps) ou le transport d'énergie (globine associée au fer dans l'hémoglobine).
Recombinant :	Terme caractérisant une molécule d'ADN hybride formée à partir d'au moins deux fragments n'ayant pas la même origine, provenant soit de deux espèces différentes d'organismes, soit de deux fragments du même chromosome qui n'étaient pas adjacents à l'origine.
Rétrovirus :	Virus dont le génome est formé d'ARN et dont l'action particulière consiste à utiliser une enzyme forçant la cellule hôte à créer de l'ADN viral. Cet ADN viral sera alors capable de pénétrer dans le noyau de la cellule infectée et de s'intégrer aux chromosomes. Le virus du SIDA est un rétrovirus.
Virus :	Particule formée de matériel génétique entouré d'un manteau protéo-lipidique et programmé pour se multiplier à l'intérieur et aux dépens d'un hôte, bactérie ou cellule. On distingue les « virus à ADN », dont le génome est formé d'ADN (les adénovirus en sont une espèce particulière), et les « virus à ARN », dont le génome est formé d'ARN (les rétrovirus en sont un exemple).

ANNEXES :

- Annexe n° I : Le problème du financement des nouvelles thérapies. Gilles JOHANET.
- Annexe n° II : La vaccination par ADN nu. Rapport de la mission pour la science et la technologie de l'Ambassade de France aux États-Unis. Septembre 1999.
- Annexe n° III : Réflexions de lecture du rapporteur : les dérapages possibles au cours de l'existence.
- Annexe n° IV : Entretiens du rapporteur.
- Annexe n° V : Lettre de saisine de l'Office parlementaire d'évaluation des choix scientifiques et technologiques

ANNEXE N° I

LE PROBLÈME DU FINANCEMENT DES NOUVELLES THÉRAPIES

*Intervention de M. Gilles JOHANET, directeur général de la Caisse nationale d'assurance maladie, au colloque sur : « **Les conséquences de l'évolution des sciences biomédicales. Enjeux de santé et réponses politiques** », organisé par le rapporteur le vendredi 12 mars 1999 au Palais du Luxembourg¹.*

2005 est la date convenue de l'achèvement du déchiffrement des séquences du génome humain et de l'identification des 50 à 80 000 gènes qui le constituent. Nous allons assister à l'irruption dans le système de soins de la médecine génétique, actuellement encore discrète sinon modeste.

Nous aurons ainsi une connaissance des quelque 5 000 maladies monogéniques et nous pourrions identifier les gènes impliqués dans les maladies d'origine polygénique. Ce sera l'avènement de cette fameuse médecine prédictive que nous annonçaient Jacques RUFFIER et Jean DAUSSET, avec un champ immense de possibilités diagnostiques et de thérapies géniques.

Cette innovation pose des problèmes d'ordre financier pour les différentes activités génétiques qui s'ouvrent à nous :

- En ce qui concerne les pathologies courantes, le diagnostic génétique introduit un risque de « trop-plein » : pathologies courantes, bénéficiaires nombreux, il y a donc un marché avec des entreprises qui l'ont déjà investi puisque nous voyons arriver des kits de diagnostics génétiques. Cela pose deux problèmes, celui des indications assurant la prise en charge et celui de la qualité.

- Pour l'autre segment de l'activité génétique concernant cette fois les pathologies orphelines, il est clair que le défi naît, au contraire, d'un vide potentiel de la recherche. Se posent alors les questions, d'une part d'un financement spécifique de cette recherche, du transfert et de l'activité quotidienne, et d'autre part de l'information et du contrôle de la qualité.

À la réflexion, il me semble qu'appliqués à cette innovation majeure qu'est la médecine génétique, les risques liés à l'extension du champ des soins et à leur financement sont entièrement confondus avec les risques que nous courons à poursuivre avec le système de soins actuel.

¹ *Ethica*. N° 28/29. Juin 1999.

On peut distinguer quatre risques potentiels :

Premièrement, des dépenses considérables liées à un non-choix: on assiste à un financement de l'innovation sans redéploiement ; le maître-mot de la politique française est depuis le 4 octobre 1945 « toujours en plus, jamais à la place ».

Deuxièmement, des dépenses dont l'utilité médicale serait « variable », c'est-à-dire un trop-plein de tests, *a fortiori* de thérapies, inappropriés dans leur essence comme dans leur destination.

Troisième risque, des dépenses dont la mise en oeuvre s'opérerait avec des inégalités considérables d'accès :

- Inégalités d'ordre médical, liées à la pathologie elle-même une fraction non négligeable des 5 000 maladies génétiques sont des maladies orphelines pour lesquelles la population potentiellement bénéficiaire est extrêmement étroite. Or une demande faible dans notre marché des soins est une demande inexistante.

- Inégalité d'ordre social, fondée sur les critères classiques, producteurs d'inégalité croissante dans notre système de soins, ou créée par un autre facteur de discrimination de la population qui est l'inégalité du savoir (où sont les bonnes équipes, qui est vraiment efficient ?).

Quatrième risque encouru : une mise en oeuvre de ces nouvelles pratiques sans contrôle suffisant de la qualité.

Face à ces risques, il me semble que l'on peut se poser cinq questions:

Premièrement, sommes-nous capables d'édicter des normes ?

- Des normes de sécurité et de fiabilité des produits : on sait en général le faire, même si c'est parfois tardif

- Des normes d'indication: qui doit être bénéficiaire ou non de la prise en charge, sachant que dans ce domaine, les coûts sont tels que cette prise en charge est un discriminant quasi absolu ?

- Des normes d'agrément, de référencement des laboratoires, voire des centres de soins, ce qui a été introduit par les lois bio-éthiques.

- Des normes de qualité. A l'heure actuelle, s'agissant des laboratoires, les normes de qualité ne sont financées et prévues que par le programme Biomed qui est un programme européen ; la France a considéré jusqu'ici qu'elle pouvait se dispenser de toute action dans ce domaine. Ce programme ne porte que sur quatre pathologies -qui certes concernent un nombre important de patients, puisqu'il y a la mucoviscidose, la myopathie de Duchenne, etc.-, alors qu'il existe 5 000 maladies monogéniques. De surcroît, le programme Biomed n'a pas *a priori* vocation à être éternel. En définitive, sommes-nous capables d'instaurer une transparence, condition d'une réelle qualité ?

Deuxième question : sommes-nous capables de rendre cette transparence opposable ?

Sommes-nous capables, si nous instaurons des normes d'agrément et de référencement, de ne pas financer les centres qui ne sont pas agréés, ce qui serait dans nos pratiques assez innovant ? Sommes-nous capables, si nous posons des indications de prise en charge, de les respecter ? Quand je dis « nous », je pense bien entendu à l'assurance maladie mais aussi aux professionnels de la santé.

Troisième grande et capitale question : sommes-nous capables d'assurer le financement de cette activité nouvelle par redéploiement ?

Le déremboursement de produits inutiles, et il est heureux de ce point de vue-là -et de ce point de vue-là seulement- que nous ayons un vaste choix, est certainement l'une des clés du progrès médical et social.

Quatrième question : en élargissant quelque peu, peut-on imaginer et accepter des modes de financement et d'organisation différenciés ?

S'agissant de la médecine génétique appliquée aux pathologies courantes pour lesquelles il existe déjà une offre prise en compte par le marché, s'agissant des actes et des diagnostics stabilisés à moyen terme, il me semble tout à fait possible de financer ces activités à l'acte.

S'agissant en revanche des activités liées aux pathologies orphelines, le mode de financement actuel par dotation globale, avec une intégration des laboratoires concernés dans les centres hospitalo-universitaires, est parfaitement inapproprié. Ces laboratoires étant spécialisés, ils ont une vocation et une attractivité nationales ; un financement sur la base d'établissements voire même de régions, ne peut manifestement prendre en compte qu'imparfaitement cette réalité. Sommes-nous par conséquent capables de différencier deux modes de financement avec, pour les pathologies rares, un réseau national constitué de laboratoires référencés et bénéficiant d'un financement spécifique ?

Enfin, j'ai proposé trois principes d'action pour épouser la modernité dans ce domaine : la transparence, la sélectivité, la coresponsabilité. Peut-on imposer ces trois principes d'action à la médecine génétique seule, tout en continuant d'en exonérer le reste des activités de soins ?

ANNEXE n° II

AMBASSADE DE FRANCE AUX ÉTATS-UNIS MISSION POUR LA SCIENCE ET LA TECHNOLOGIE

LA VACCINATION PAR « ADN NU »

Septembre 1999

Rapport de synthèse de la Mission aux États-Unis des

Professeur Patrice DEBRÉ, professeur d'immunologie, Hôpital Pitié-Salpêtrière, Paris ;

Dr Bernard CHARLEY, directeur de recherche INRA, Jouy-en-Josas ;

Dr Lucyna COVA, directeur de recherche, INSERM, Lyon

Accompagnés de : - Stéphane ROY, attaché pour la science et la technologie (San Francisco) ;
- Wahid BAKOUCHE, attaché pour la science et la technologie (Washington).

Préambule

Ce rapport présente les résultats d'une mission effectuée en juin 1999 sur la vaccination par « ADN nu » dans le cadre d'une action de veille en Recherche et Développement dans le domaine des biotechnologies aux États-Unis. Elle rassemble le contenu d'une série d'entretiens réalisés en Californie et dans la région de Washington. Dans certains cas, les données ont été complétées par des informations issues de documents.

Elle présente les récents développements sur le thème de la recherche sur la vaccination à « ADN nu » en analysant la situation d'un point de vue scientifique tout en essayant de faire le point sur la stratégie des entreprises de biotechnologies et leurs interactions avec le monde académique.

Cette mission s'est rendue dans les laboratoires suivants : Chiron Corporation, Emeryville, Californie ; Dynavax Technologies Corp., Berkeley, Californie ; Center for Comparative Medicine, University of California à Davis, Californie ; Vical, San Diego, Californie; et Agricultural Research Center, United States Department of Agriculture, Beltsville, Maryland.

INTRODUCTION

I. STRUCTURES VISITÉES

1. Chiron Corporation.
2. Dynavax Technologies Corporation
3. Center for Comparative Medicine, University of California à Davis
4. Vical Inc.
5. Agricultural Research Service, USDA
6. Maxygen

II. APPRÉCIATION DE LA SITUATION AUX ÉTATS-UNIS

1. Optimisme des interlocuteurs
2. Approche thérapeutique ou préventive
3. Essais cliniques chez l'être humain
4. Importance de l'approche vétérinaire

III. DÉFIS À RELEVER

1. Augmentation de la réponse immunitaire
2. Ciblage des cellules cibles
3. Aspects réglementaires

IV. STRATÉGIE DES ENTREPRISES DE BIOTECHNOLOGIE

1. Nombre limité de sociétés de biotechnologies
2. Vical et ses partenaires
3. Approche de Chiron

V. CONCLUSIONS

INTRODUCTION

Le marché de l'immunothérapie et de la vaccinologie est devenu très compétitif et très vaste dans la diversité des maladies ciblées (cancer, maladies infectieuses, neurodégénératives...). Les sociétés de biotechnologie et les grands groupes pharmaceutiques cherchent à produire des vaccins plus efficaces. D'ores et déjà, de nouvelles technologies permettent :

1. de développer de nouvelles méthodes de préparation ;
2. d'envisager de nouvelles cibles et
3. d'administrer ces vaccins différemment.

Le principe de la vaccination par « ADN nu » date d'une découverte inattendue faite en 1989 et publiée dans *Science*¹. Une simple administration de plasmides contenant des séquences d'ADN codant pour des protéines permettait la pénétration de l'ADN dans les tissus et résultait en son expression in situ. L'expression d'une protéine étrangère codée par de l'ADN injecté dans les cellules d'un tissu a provoqué une réponse immunitaire. Cette nouvelle propriété a très vite semblé offrir de grandes opportunités pour les vaccins thérapeutiques ou prophylactiques et révolutionner la vaccinologie aux États-Unis.

Dans le cadre de son action de veille dans le secteur des biotechnologies, la Mission pour la Science et Technologie aux États-Unis a choisi le thème de la vaccination par « ADN nu ». Faisant appel à des experts français, cette étude a pour objet de mieux faire connaître la situation américaine, de déterminer ses tendances en recherche et développement et d'analyser la faisabilité de cette approche en vaccinologie.

Dans cette optique, cette mission d'étude a consisté à la visite de centres de recherche privés ou académiques, différents par leurs centres d'intérêts, leurs préoccupations et leur degré d'implication. Cette note est le résultat d'entretiens avec des Chief Executive Officer (CEO), des Chief Scientific Officer (CSO), des Directeurs de recherche et des Professeurs d'Université.

Dans un premier temps, nous présentons les différents laboratoires choisis et visités, puis nous analysons la situation aux États-Unis à la fois sur le plan scientifique et stratégique avant de donner quelques éléments sur le paysage des sociétés de biotechnologies impliquées dans cette approche.

I. STRUCTURES VISITÉES

1. Chiron Corporation.

Personnes rencontrées :

Margaret A. LIU, MD, vice-président, Vaccines and Gene Therapy Research ;
Jeffrey B. ULMER, Ph. D., Director, Vaccines Research ;
John J. DONNELLY, Ph. D., Director, Vaccine Research.

Société de biotechnologie de grande importance, Chiron a été fondée en mai 1981 à Emeryville, à proximité des Universités de Californie à Berkeley (UCB) et à San Francisco (UCSF) par William RUTTER et son ancien élève Edward PENHOET. Devenue publique en 1983, Chiron multiplie les accords de coopération en recherche et développement pour pouvoir croître. C'est en 1988 qu'a lieu l'identification du virus de l'hépatite C. Cette découverte ouvre la voie à la fabrication de tests et à la réalisation de vaccins et de traitements. Après de multiples rachats (Cetus en 1991, etc.), l'entreprise devient très vite un groupe biomédical à

¹ Wolff et al. (1990) *Science* 247: 1465.

l'expertise reconnue. Chiron emploie environ 7000 personnes dont 1 500 sur le site d'Emeryville. Implantée sur l'ensemble des États-Unis et de part le monde, Chiron a pour ambition d'être la première entreprise de biotechnologie dont la création de produits transformera la pratique de la médecine. En 1998, ses bénéfices se sont montés à 220 millions de dollars.

Chiron est actif dans trois grands secteurs de l'industrie de la santé : les diagnostics, les vaccins et les biothérapies. La recherche et développement de Chiron se concentre sur la thérapie génique, les vaccins, la génomique et la découverte de nouvelles molécules thérapeutiques.

Chiron a clairement misé sur l'approche d'immunisation par « ADN nu » dans le cadre de sa politique de R&D en vaccinologie. Les recherches dans ce domaine portent essentiellement sur les différentes modalités de cette technologie :

- mécanismes fondamentaux, présentation antigénique, intégration de l'ADN ;
- ciblage de l'antigène aux cellules dendritiques (recrutement à l'aide de chimiokines) ;
- tentatives pour éviter la dégradation de l'ADN (digestion par nucléase) ;
- approche par électro-incorporation in vivo pour en augmenter l'intégration cellulaire.

Cette compagnie se focalise sur deux applications essentielles : le VIH (virus de l'immunodéficience humaine) et l'hépatite C. Un groupe d'une quinzaine de personnes travaille aujourd'hui sur le sujet de la vaccination par « ADN nu ».

2. Dynavax Technologies Corporation

Personnes rencontrées :

Dino DINA, M.D., President & Chief Executive Officer ;

Joseph EIDEN Jr., M.D., Ph. D., Vice President, Research and development ;

Gary VANNEST, Ph. D.

Dynavax a été fondée en 1997 par les Professeurs Eyal RAZ et Dennis CARSON de l'Université de Californie à San Diego en association avec le Professeur Lawrence LICHTENSTEIN du John Hopkins School of Medicine à Baltimore (Maryland). Les docteurs CARSON et RAZ sont les co-découvreurs des séquences immunostimulatrices qui forment la base de la technologie développée par Dynavax. Dynavax est une société privée qui ne possède pas encore de revenus. Elle emploie 22 personnes et finance la recherche de 9 chercheurs à l'université de Californie à San Diego.

Ce groupe qui avait parié sur l'utilisation de la vaccination par « ADN nu » (5 brevets déposés), en particulier dans ses applications pour l'asthme et l'allergie, s'est aujourd'hui reconverti vraisemblablement à cause des prises de brevets par les autres compagnies de biotechnologies, de l'absence d'applications à très court terme et des aspects réglementaires encore inexplorés. Dynavax a choisi de s'intéresser aux séquences d'ADN immunostimulatrices (ISS) en tant qu'adjuvant.

Dynavax espère pouvoir avoir deux de ses candidats de séquences immunostimulatrices en phase I d'essais cliniques en 1999.

3. Center for Comparative Medicine, University of California à Davis

Personnes rencontrées :

Steve W. BARTHOLD, DVM, Ph. D., Professeur Directeur ;
Paul L. UCIW, Ph. D., Associate Professor ;
Gary RHODES, Ph. D. Associate Professor ;
Philippe LENA, Ph. D., Assistant Research.

Au cours de cette journée, une table ronde avait été organisée et les personnes suivantes sont intervenues : Professeurs Murray GARDNER, Marta MARTHAS, Peter BARRY, Chris MILLER et Mike McCHESNEY.

Le Center for Comparative Medicine (CCM) est un centre de recherche et d'enseignement spécialisé dans l'étude de la pathogénie des maladies infectieuses communes aux animaux et aux humains. Le CCM regroupe 13 chercheurs choisis à l'école de médecine et à l'école vétérinaire. Le CCM veut développer une activité de recherche intégrée au modèle animal entier. De ce fait, le CCM jouxte le « California Regional Primate Research Center » (CRPRC), centre de primatologie unique au monde et se trouve à proximité du « Targeted Genomics Laboratory » (TGL). Le TGL a pour but de créer et maintenir une collection de souris transgéniques, utilisées pour étudier l'origine génétique et le développement de certaines maladies. Le CCM est né de la volonté d'un groupe de chercheurs dans la perspective de regrouper la thématique de la pathogénie des maladies infectieuses pour générer des collaborations et des projets de recherche communs et de devenir un centre d'excellence de la recherche en biologie intégrée à l'animal entier.

Le programme de vaccination par « ADN nu » a débuté en 1995 avec l'arrivée de Gary RHODES, ancien employé de Vical. Cette visite a permis de noter plusieurs applications des vaccins par « ADN nu » notamment pour des applications vétérinaires dans le domaine du FIV¹ et du SIV². Les résultats (éventuellement encourageants pour le FIV) nécessitent cependant largement d'être complétés avant que l'on puisse en tirer de réelles données, notamment sur l'avantage de cette technique par rapport aux vaccinations classiques en matière d'efficacité. On a eu l'impression que même au sein de cette structure universitaire importante, qui possède un des plus grands centres des primates (CRPRC), les équipes impliquées dans le développement du vaccin par « ADN nu » sont petites et les résultats obtenus, bien qu'encourageants, n'ont pas permis une démonstration claire. Ces travaux ne reflètent pas de manière complète les progrès réalisés dans ce domaine aux États-Unis. À titre d'exemple, les travaux présentés sur la vaccination des macaques contre le SIV montrent un échec de cette approche au niveau prophylactique, c'est-à-dire des difficultés d'induire une immunisation. Ceci est en contradiction avec les résultats récemment publiés dans *Nature Medicine* par la prestigieuse équipe de Harriet Robinson (Emory University, Atlanta) qui a montré que le vaccin par « ADN nu » induit une immunité cellulaire protectrice contre le SIV dans ce modèle. Il est donc très difficile d'évaluer les progrès de recherche sur le vaccin à « ADN nu » en se basant sur les travaux de Davis.

4. Vical Inc.

Personnes rencontrées :

Jon A. NORMAN, Ph. D., Vice-President. Research ;
Robert H. ZAUGG, Ph. D., Vice-President, Business Development ;
Marston MANTHROPE, Ph. D., Executive Director, Cell Biology ;
Seth D. GOLDBLUM, Director, Corporate Development ;
Carl J. WHEELER, Ph. D., Director Chemistry.

¹ FIV : feline immunodeficiency virus.

² SIV : simian, immunodeficiency virus.

Vical a été fondée en 1987 pour travailler en recherche et développement dans le domaine de la chimie des lipides. C'est en 1989 que leurs travaux les ont conduit à découvrir que l'ADN nu injecté pouvait avoir un effet immunologique et qu'ils ont déposé un brevet. Devenue publique en 1993, Vical continue à collaborer avec de grands groupes pharmaceutiques pour l'utilisation de la vaccination à « ADN nu » à usage thérapeutique. En 1998, Vical avait des revenus de 8 millions de dollars et enregistré toutefois une perte de 7,5 millions de dollars. La compagnie emploie 101 personnes au premier trimestre de l'année 1999.

Cette compagnie est certainement une des plus avancées dans le domaine. Elle a donné en licence le brevet de la technologie de l'immunisation par « ADN nu » pour la majeure partie des pathologies pouvant être évoquées. A l'heure actuelle, les protocoles concernent d'une part des essais en matière de vaccination anti-paludéenne en corrélation avec le Naval Research Institute à Washington, d'autre part des essais expérimentaux dans le modèle murin pour déterminer les meilleurs modèles expérimentaux d'infection. Vical a par contre conservé en développement propre l'utilisation des séquences d'ADN pour une approche d'immunothérapie du cancer. Vical a ainsi 3 produits en essais cliniques: allovactin 7 (phase III), leuvectin (phase II) et vaxid (phase I).

Vical conserve aussi une activité de recherche fondamentale dans deux domaines liés à l'injection d'ADN nu. D'une part, elle se concentre sur la délivrance de protéines thérapeutiques à partir d'injection de gène nu, d'autre part elle se focalise sur les processus de transfert de gènes en thérapie génique.

5. Immunology and Disease Resistance Laboratory, Agricultural Research Service, USDA

Personnes rencontrées :

Joan LUNNEY, Research Leader ;
Mark JENKINS, LPSI ;
Kang Duk CHOI, LPSI ;
John and Rose HAMMOND, PSI.

Les chercheurs rencontrés travaillent sur plusieurs maladies animales contre lesquelles ils élaborent actuellement des stratégies de vaccination par ADN : maladies parasitaires et virales des poules, des bovins, du porc. En matière de vaccination contre les parasites protozoaires, des essais sont en cours contre la cryptosporidiose bovine et contre les coccidioses aviaires : utilisation d'ADN administré chez les bovins par voie intramusculaire ou intra-mammaire (« gene-gun »)-, injection d'ADN autour des ganglions associés à la glande mammaire (Mark JENKINS). Chez la poule, vaccination ADN par voie intramusculaire avec un gène du parasite, en association avec un plasmide codant pour l'IL-15 aviaire (Kang Duk CHOI). Chez le porc, des essais de vaccination sont en cours contre une herpès-virose (maladie d'Aujeszky), ou contre la toxoplasmose, avec de nouvelle association de plasmides codant pour un antigène, et de plasmides codant pour des cytokines porcines (J. LUNNEY).

Nous avons aussi rencontré, en marge de la vaccination par ADN, des chercheurs travaillant sur l'utilisation de plantes recombinantes comme vecteurs de vaccins (J. et R. HAMMOND).

6. Maxygen

Personne rencontrée :

Russell J. HOWARD, Ph. D., President et CEO.

Maxygen est une entreprise privée fondée en 1997 comme spin-off de Glaxo Wellcome (Oxford, Angleterre) et d'Affymax (Santa Clara, Californie) par Alejandro ZAFFARONI, Russell HOWARD, Isaac STEINER et Pim STEMMER. Ce dernier, ancien employé d'Affymax, a développé le « DNA shuffling » qui constitue la base de la technologie proposée par Maxygen. Le « DNA shuffling » est une approche nouvelle basée sur le « brassage » d'ADN de la même famille pour créer de nouveaux épitopes qui pourraient être particulièrement intéressants pour des nouveaux vaccins. Il est intéressant de noter que Robert WHALEN¹ vient tout juste de rejoindre Maxygen pour utiliser cette approche technologique et développer de nouveaux vaccins par « ADN nu » avec comme objectif d'augmenter la réponse immunitaire.

II. APPRÉCIATION DE LA SITUATION AUX ÉTATS-UNIS

À partir de ces structures visitées (ce qui ne constitue qu'un échantillon des recherches et applications industrielles en cours aux États-Unis), il apparaît clairement que la stratégie de la vaccination par « ADN nu » représente une approche qui, en 10 ans seulement, a mobilisé et mobilise toujours nombre d'équipes académiques et de structures industrielles. A titre d'illustration, le Keystone Symposium sur « DNA vaccines : immune responses, mechanisms and manipulating antigene processing » a regroupé plus de 300 personnes.

1. Optimisme des interlocuteurs

Le fait qu'une entreprise de la taille de Chiron investisse une part importante de ses efforts en vaccinologie sur la vaccination par « ADN nu », et de surcroît ait recruté toute l'ancienne équipe de Margaret LIU chez Merck (Jeffrey ULMER et John DONNELLY) est à lui seul la preuve que les principaux intervenants industriels dans ce domaine « croient » en son succès. Le même enthousiasme par rapport à la vaccination par « ADN nu » se retrouve bien évidemment chez Vical.

Les doutes principaux tiennent cependant aux délais importants requis avant le stade de l'application: une entreprise de petite taille comme Dynavax a de ce point de vue fait l'analyse qu'elle ne pouvait pas se lancer, pour des raisons scientifiques (méthode encore faiblement efficace) et par conséquent financières, dans des recherches à long terme sur la vaccination par « ADN nu ». C'est pour cette raison qu'elle a choisi une approche à plus court terme sur l'effet immuno-adjuvant des plasmides eux-mêmes, et leur utilisation potentielle pour lutter contre les allergies.

La plupart des interlocuteurs ont aussi tempéré leur optimisme sur les chances de succès de cette approche, en faisant le constat que la transposition des bons résultats, obtenus (et publiés) chez la souris, à d'autres espèces animales, y compris les primates, posait des problèmes : il est admis par tous que le pouvoir immunogène des vaccins par « ADN nu » actuellement en cours d'étude est inférieur à celui des vaccins classiques. Il est par conséquent essentiel d'augmenter cette immunogénicité, par plusieurs approches (voies d'immunisation; méthodes d'injection; association ADN puis rappel par la protéine ; électroporation in vivo ; effet adjuvant de l'ADN lui-même, des séquences ISS ou CpG ; formulation de l'ADN avec des adjuvants classiques; encapsulation de l'ADN, administration de l'ADN par des vecteurs; utilisation de cytokines à effet adjuvant co-administrées sous forme d'ADN...).

¹ Ancien vaccinologue du CNRS.

2. Approche thérapeutique ou préventive

L'approche vaccinale (préventive) est la plus classique et est surtout appliquée à la recherche de vaccins anti-infectieux chez l'homme et l'animal. Toutes les étiologies infectieuses sont concernées : virus, bactéries, parasites. Son efficacité protectrice contre différents pathogènes a été clairement démontrée dans différents modèles animaux. Bien que la protection obtenue ne soit pas supérieure à celle induite par les vaccins recombinants, les vaccins à « ADN nu » ont de nombreux avantages. Parmi les atouts principaux de ces vaccins on peut citer :

- synthèse permanente d'antigène dans les cellules qui permet une stimulation constante du système immunitaire ;
- induction d'une réponse non seulement humorale mais aussi cellulaire ;
- modulation facile des vecteurs à base d'ADN, ce qui est particulièrement intéressant dans le cas d'émergence des variants d'échappement ;
- faible coût, car la préparation d'ADN est peu onéreuse, et l'immunisation par «ADN nu» nécessite peu d'injections évitant de lourdes et coûteuses procédures de synthèse et de purification des protéines ;
- facilité de stockage (pas besoin de réfrigération) ; cette approche vaccinale apparaît comme particulièrement pertinente pour les pays en voie de développement.

L'efficacité thérapeutique du vaccin à « ADN nu » est moins bien documentée. Outre les perspectives anti-tumorales pour lesquelles une autre mission d'étude est prévue, des approches thérapeutiques par utilisation de l'ADN sont en cours d'étude. Un des avantages essentiels du vaccin génétique comme nouvel outil thérapeutique pour les sujets atteints d'infection chroniques est l'induction d'une réponse cellulaire via les molécules du CNOE de classe I. C'est un atout majeur par exemple pour le traitement des hépatites B chroniques, car les CTL induits par l'injection d'ADN nu peuvent reconnaître et lyser les cellules hépatiques infectées. L'approche thérapeutique est utilisée également pour le traitement d'allergie et de l'asthme par injection d'oligodéoxynucléotides (ODN) immunostimulants (exemple ODN de 22 nucléotides) seuls ou conjugués chimiquement avec l'allergène (Dynavax). D'autres possibilités d'utilisation thérapeutique de l'ADN concernent l'injection intra-tumorale de plasmides codant pour l'IL-2 et pour une molécule HLA de classe I (essais phase III chez l'homme), ou l'injection répétée de plasmides codant pour l'érythropoïétine chez le chien âgé (Vical).

3. Essais cliniques chez l'être humain

Les premiers essais cliniques chez les humains utilisant la vaccination par « ADN nu » ont été effectués par PowderJect¹ en collaboration avec Glaxo Wellcome, pour la prophylaxie de l'hépatite B.

Les résultats prometteurs de protection efficace obtenus récemment pour différents virus (influenza, VIH, HTLV I, HBV, Ebola, Cytomegalovirus, HTLV, rage...) dans différents modèles animaux ont été à la base des premiers essais de vaccination par « ADN nu » chez l'homme. Plusieurs essais de vaccination par « ADN nu » sont conduits actuellement chez des volontaires aux États-Unis; Influenza (John Hopkins University, Baltimore, Maryland), malaria (en collaboration avec le Capitaine Steve HOFFMAN de l'U.S. Naval Medical Research Center (Bethesda, Maryland) et Pasteur Mérieux Connaught), hépatite B (University of Cincinnati, Ohio), VIH (University of Pennsylvania à Philadelphie en collaboration avec Merck et Vical), Herpès (University of Washington à Seattle)... Ce qui montre l'intérêt des autorités américaines pour cette approche.

¹ PowderJect Pharmaceutical a été fondée en 1993 pour exploiter les recherches réalisées à l'Université d'Oxford (Angleterre) et se trouve basée à Madison, Wisconsin.

4. Importance de l'approche vétérinaire

La facilité de préparation de l'ADN, le faible coût de sa production, l'absence de danger et sa stabilité à la température, expliquent que de nombreuses expérimentations aient été menées chez les animaux domestiques, espèces cibles directes des vaccins ADN. Ces essais concernent toutes les espèces animales domestiques (truites, oiseaux, mammifères) et tous les pathogènes importants. Les structures académiques de recherche visitées (UC Davis et USDA à Beltsville) ont des programmes de recherche sur la vaccination par ADN chez les animaux domestiques, chaque équipe travaillant sur « sa » maladie « préférée ». On retrouve les mêmes tendances que dans les essais sur animal de laboratoire, sur primates ou chez l'homme : besoin d'augmenter l'immunogénicité, par exemple par l'emploi simultané de plasmides codant pour des cytokines (IL-15 chez le poulet contre la coccidiose; plasmides codant pour diverses cytokines chez le porc contre la toxoplasmose ou contre une herpèsvirose du porc) ; recherche des voies optimales d'administration. Un accent particulier est mis sur la possibilité de vacciner le jeune animal (vaccination néonatale), en présence d'anticorps maternels, ce qui représente un net avantage de la vaccination par « ADN nu » par rapport aux vaccins classiques protéiques (UC Davis).

La situation des applications vétérinaires de la vaccination par « ADN nu » est marquée au niveau industriel par le fait que la société Vical a signé avec la société Merial (fusion des activités Santé animale de Rhône-Mérieux et Merck) un accord d'exclusivité limité dans le temps, au cours duquel Merial évalue les domaines d'application. Au terme de cette période, Merial devra définir les maladies et les espèces animales pour lesquels il aura l'exclusivité de l'exploitation du brevet Vical.

III. DÉFIS À RELEVER

1. Augmentation de la réponse immunitaire

Le besoin évident d'accroître l'immunogénicité des vaccins ADN se traduit en termes de pistes de recherche par :

- variations autour de la voie d'administration (sous cutanée, intramusculaire, mucosale) et méthode d'injection (seringue, systèmes sous pression avec l'exemple de Bioject ; par le « gene gun » avec l'exemple de PowderJect® System) ;
- différentes présentations de l'ADN (en association avec des microparticules, des acides gras; vecteur répliquatif type alphavirus; association avec des adjuvants classiques (alun) ...) ;
- effets adjuvants de cytokines co-injectées sous forme plasmidique (notamment GM-CSF en essai chez l'homme et les animaux domestiques) ;
- association vaccin « ADN nu » et rappel par l'antigène protéique ;
- modification des séquences immunostimulantes du plasmide lui-même ou injection simultanée d'oligonucléotides.

2. Ciblage des cellules-cibles

Le constat qu'une part importante de l'ADN injecté est perdu, dégradé par des macrophages résidents, et donc ne transfecte pas suffisamment de cellules justifie la recherche de moyens susceptibles d'augmenter in vivo la transfection des cellules musculaires (injection intramusculaire) : utilisation d'un système à usage unique d'injection et électroporation in vivo (Chiron).

3. Aspects réglementaires

Personne rencontrée :

Imran KHAN, Ph D., Bio-Trends International, Inc., Research Leader.

En médecine vétérinaire, le correspondant de Biotrends International comme ceux de Vical en relation avec Mérial considèrent qu'il n'y aura pas de frein majeur à l'utilisation de l'ADN en vaccination des animaux, à certaines conditions: absence de marqueur de résistance aux antibiotiques à l'exception du marqueur kanamycine ; absence de diffusion du plasmide injecté, dans les organes génitaux, le liquide séminal; absence d'insertion dans la lignée germinale.

En médecine humaine, les essais effectués par Vical ont donné lieu à une approche soigneusement évaluée avant de soumettre le protocole expérimental à la FDA (Federal Drug Administration).

IV. STRATÉGIE DES ENTREPRISES DE BIOTECHNOLOGIE

1. Nombre limité de sociétés de biotechnologies

Le nombre de sociétés de biotechnologies impliquées dans la recherche et développement en vaccination par « ADN nu » est assez limité. Outre les sociétés visitées, il est intéressant de noter que PowderJect Vaccine Inc., a une activité très importante dans ce domaine en utilisant sa plate-forme technologique d'injection PowderJect®. Ainsi au mois de janvier 1999, PowderJect et Glaxo Wellcome (Oxford, Angleterre) ont étendu leur collaboration sur la vaccination par « ADN nu » pour l'hépatite B, le VIH, des maladies infectieuses et certains cancers. Cette extension de la collaboration fait suite aux premiers résultats prometteurs des tests cliniques pour le vaccin de l'hépatite B. Il semble aussi que la compétition soit croissante dans le domaine de la vaccination par « ADN nu ». En effet, de nombreuses sociétés de biotechnologies (Chiron, Vical, Merck, PowderJect...) sont activement impliquées dans l'application de cette approche et le domaine est couvert par des prises des brevets.

Compte tenu que le domaine de vaccination par « ADN nu » dans l'état actuel est largement couvert par des brevets et que le développement de nouvelles approches requière un investissement important en recherche, on comprend que des start-up, comme Dynavax et Apollon¹, ne soient pas très compétitives et préfèrent changer d'orientation. Par contre, on note simultanément l'implication d'autres petites compagnies de biotechnologie dans le domaine du vaccin à « ADN nu », mais qui proposent des stratégies très différentes. C'est le cas par exemple de Maxygen qui veut commercialiser la technique de « DNA shuffling ».

Enfin, il est intéressant de noter qu'au cours de ces entretiens, les différents acteurs impliqués dans la R&D sur la vaccination par « ADN nu » aux États-Unis ont été très souvent « débauchés » par différentes compagnies qui se sont offertes ainsi une expertise. Ainsi Dino DINA, CEO et Président de Dynavax, était au préalable employé par Chiron Corporation depuis 1982 où il a dirigé le département Vaccins. Il a été remplacé par Margaret LIU qui est à l'origine de l'alliance de Merck et de Vical. Enfin, le passage de Gary RHODES (Professeur à UC Davis) de Vical au milieu académique a permis le démarrage de cette activité sur le campus.

¹ *Petite start-up créée en 1992 en Pennsylvanie, Apollon n'a jamais réussi à devenir publique. Son approche technologique rentrait en conflit avec les brevets de Vical.*

2. Vical et ses partenaires

Vical a compris très tôt l'intérêt du développement de la vaccination par « ADN nu ». Très rapidement Vical a couvert par les brevets la vaccination par ADN pour les différents virus (VHB, VIH, Influenza...), bactéries, parasites et cancer.

Vical a ensuite accordé des licences à de grands groupes pharmaceutiques pour l'utilisation de sa technologie d'immunisation par « ADN nu ». Dès 1991, Merck Research Laboratories a obtenu une licence pour utiliser cette approche dans le traitement des maladies infectieuses (pour HBV, HIV et HCV), et une stratégie similaire a été adoptée pour Pasteur Mérieux Connaught. Merial (à l'époque Rhône Mérieux) a obtenu la licence de cette technologie pour des applications vétérinaires en 1995. En 1997, Merck a repris une licence pour les maladies cardio-vasculaires et Rhône-Poulenc Rorer pour les maladies neurodégénératives. Tout dernièrement, en 1999, Pfizer vient de donner en licence la technique de délivrance des gènes pour des applications en santé animale¹.

Un accord de « cross-licensing » a été signé entre Dynavax et Vical au début de l'année 1998 donnant l'accès aux technologies respectives des deux partenaires. Ainsi, Dynavax a accès à certains brevets qui couvrent l'immunisation par ADN dans le domaine des maladies de l'asthme et de l'allergie. En retour Vical obtient l'accès à la technologie développée par Dynavax pour l'immunostimulation de certaines séquences d'ADN pour utiliser dans le domaine des maladies infectieuses et du cancer.

Enfin, Vical garde uniquement la mise au point des vaccins pour les thérapies du cancer.

3. Approche de Chiron

La situation de Chiron est différente car cette très importante société de biotechnologie a beaucoup investi dans le vaccin à « ADN nu » contre HIV et l'hépatite C. Chiron a « débauché » de Merck d'abord Margaret LIU et ensuite toute son équipe avec des chercheurs de très haut niveau comme Jeffrey ULMER et John DONNELLY qui sont une référence dans le domaine d'immunisation génétique. Cependant, comme la licence est détenue par Merck, le problème de rachat va être posé au moment de la commercialisation du vaccin.

Sous la houlette de Margaret LIU, Chiron a donc très nettement concentré ses efforts sur l'aspect technologique de la vaccination à « ADN nu ». De l'avis même de nos interlocuteurs, une telle approche est nécessaire pour d'une part augmenter l'efficacité de l'immunisation et d'autre part contourner les brevets déposés par Vical qui semblent verrouiller le marché. Le but est de résoudre les problèmes technologiques afin d'utiliser cette approche vaccino-logique pour différentes maladies.

IV. CONCLUSIONS

Cette mission a permis de montrer l'intérêt de cette technologie et son développement dans l'industrie des biotechnologies. Tous les interlocuteurs s'accordent à dire que la vaccination à « ADN nu » a de nombreux avantages dont la possibilité de prédire/combattre les changements observés dans les souches de nombreux agents infectieux et de présenter les antigènes sous leur forme native, la stabilité de la réponse immunitaire, la simplicité de production en utilisant des procédés de fermentation bactérienne, et la lutte contre l'immunosénescence (activité développée par Pharmadigm Inc).

Cependant, cette méthode demande encore à être comparée aux vaccins traditionnels, étudiés en matière de stratégie vaccinale (technique « prime boost ») et des recherches dans le

¹ Cette collaboration s'élève à 40 millions de dollars. Source : Bioworld Today. 26 janvier 1999.

domaine fondamental avant de pouvoir clairement définir sa place et son avenir en vaccinologie préventive et/ou thérapeutique.

Cette mission a aussi permis d'apprécier l'intérêt et l'enthousiasme des sociétés de biotechnologies pour la vaccination par « ADN nu ». Le domaine est très largement couvert par les brevets ce qui rend difficile l'émergence de start-up, à l'exception de celles qui proposent des approches méthodologiques innovantes. L'immunisation par « ADN nu » est considérée aux États-Unis comme une approche d'avenir qui est en train de révolutionner la vaccinologie et l'immunothérapie comme l'attestent des publications dans les journaux de très haut niveau et des nombreux essais chez l'homme. L'appréciation de la recherche dans le domaine fondamental est difficile en se basant sur les structures académiques visitées et devrait être complétée par la visite des laboratoires de pointe sur la côte Est.

ANNEXE N° III

Réflexions de lecture du rapporteur :

LES DÉRAPAGES POSSIBLES AU COURS DE L'EXISTENCE

De génération en génération, les informations contenues dans le noyau, 2x23 chromosomes pour chacun de nous, sont les copies de celles que possédaient notre ancêtre, l'*Homo sapiens sapiens*, modifiées lors des recopiations, au fil des divisions cellulaires, en mal souvent, en bien exceptionnellement.

Au cours de la vie de chacun, le patrimoine génétique initial assure les renouvellements nécessaires aux remplacements des cellules qui disparaissent normalement, qu'il s'agisse des cellules de la peau comme de tous nos organes sauf en ce qui concerne le muscle cardiaque et le cerveau. Ces deux organes, essentiels à la vie, ne bénéficient pas de ces possibilités de renouvellement : leur usure provient de l'apparition, dans la cellule, de facteurs capables d'engager l'apoptose cellulaire.

Il est reconnu et admis que si des cellules germinales (blastes) sexuelles, (début de la lignée ovocytaire ou au début de la lignée des spermatozoïdes) subissent une altération du génome, cela peut donner une mutation ou une maladie transmise génétiquement (trisomie 21)

Si ces cellules sont des cellules germinales d'une lignée à renouvellement rapide (derme, lymphoblastes), la mutation va créer une maladie à retentissement important puisqu'un seul blaste malade sera le « père » de nombreuses cellules matures après multiples divisions (cancers cutanés, leucémies). Ce système de renouvellement continu est destiné à pallier une usure naturelle (peau).

Si ces cellules sont des cellules très différenciées à renouvellement faible ou nul (neurones myocardiocytes), le plus souvent cela aboutit à la mort de la cellule et à la dégénérescence progressive de l'organe ; si cette destruction ou cette erreur de retranscription du génome touche la partie codant le mécanisme de division cellulaire (mécanisme inhibé dans l'exemple du neurone et du cœur), le réveil de ces mécanismes peut provoquer la naissance d'une tumeur (cancer) constitué d'une masse de filles de cette cellule qui n'aurait jamais dû retrouver la capacité de se diviser.

L'apoptose est due à l'exécution du message de leur mort que contiennent des cellules essentielles à la vie. C'est probablement une partie du génome qui est réprimée (cachée à la rNa transcriptase pendant la vie cellulaire) : à un moment donné, il va être exprimé donnant naissance à des protéines toxiques entraînant l'autodestruction de la cellule. L'apoptose est un phénomène cellulaire autonome, ce n'est pas une attaque extérieure de la cellule. Elle serait donc autoprogrammée pour se détruire.

Il y a une organisation duale des données génétiques. Ce sont les allèles : un gène de prédisposition à une longue vie (gène du centenaire) serait aussi porteur d'une prédisposition à l'infarctus du myocarde vers 40 ans. Lequel sera dominant ? et pourquoi ? Les conditions de vie contribueraient-elles à la victoire de l'un ou de l'autre ?

Même si la réalité n'est pas aussi simple, il n'en reste pas moins que des transformations passagères, plus ou moins durable, peuvent devenir transmissibles et rompre, modifier l'équilibre initial ; des maladies peuvent apparaître sans pour autant être automatiquement transmissibles.

« Un pourcentage élevé du potentiel génétique humain reste silencieux. L'expression des gènes est régulée de façon physiologique en réponse à des facteurs externes (condition de nutrition, stress variés, infection virales etc.) ou internes (mutations, actions hormonales) lors de processus tumoraux ou au cours du vieillissement.

Que sait-on de l'organisation du noyau, des compartiments nucléaires où s'activent ou bien se répriment les gènes, se maturent les ARN, s'assemblent les ribosomes, s'organisent l'import et l'export des ARN et des protéines ? Ces questions relevant de l'architecture du noyau vont devenir de plus en plus essentielles.

La cellule contient des horloges internes (cyclines et protéines kinases qui régulent le cycle cellulaire, les télomères qui régulent le nombre de cycles, des programmes d'apoptose et de vieillissement, qui régulent la survie cellulaire).

Connaître la fonction des gènes est une tâche de grande ampleur et d'importance, car cette connaissance constitue la base d'une physiologie intégrée. On sait que les grandes fonctions de base et les machineries cellulaires sont conservées de la levure de bière à l'homme ». (D'après M. YANIC et A. SENTENAC Rapport Académie des Sciences).

Une autre source de modification se produit lors de l'appariement des chromosomes d'origine maternelle et d'origine paternelle, intervenant 18 heures après la fécondation et aboutissant à la formation du zygote ; nous avons tous la même quantité de « livres » dont le sujet est imposé à tous : contribuer à la naissance d'un être humain complet. Mais chacun des parents n'apporte pas exactement le même texte sur le même sujet ; par exemple le père donne la recette des yeux bleus, la mère peut être sans projet ou apporter celle des yeux marrons, recette dominante qui s'imposera aux yeux bleus. Pour avoir les yeux bleus, il faut soit que les parents aient tous deux la recette des yeux bleus, soit que la mère n'ait pas de recette ou porte une recette illisible.

Enfin la « consommation constante » des protéines finalement éliminées après usage sous forme d'urée, exige leur fabrication également constante : au cours de celle-ci des incidents, des erreurs peuvent apparaître ; comme dans le fonctionnement d'une automobile se dégrade par usures ; des incidents, des accidents, des maladies, non transmissibles, peuvent, chez les êtres vivants, se manifester au cours d'une existence.

1. Comme chacun, dans un dictionnaire, en connaissance des 26 lettres alphabétiques, peut lire les mots utiles au langage des hommes entre eux, comprendre le sens de chacun d'entre eux, selon sa place dans une phrase, dans des ouvrages ou dans des discours, les généticiens, suffisamment expérimentés, peuvent lire dans ce dictionnaire humain, le génome, à condition d'avoir la connaissance des 24 lettres¹ de notre alphabet d'humain. Leurs places, leurs présences sur les gènes .donnent un sens, un rôle, une activité particulière aux comportements de chacun de nous, avec une particularité essentielle : chaque bibliothèque est propre à chacun, même chez des jumeaux parfaits.

Malgré cette diversité certaine entre les individus, les être humains ne reproduisent que des êtres humains se ressemblant alors que dans le règne végétal et animal les différences aboutissent à des espèces qui, entre elles, de l'arbre majestueux au pissenlit ou à la violette, de l'éléphant au virus du SIDA, paraissent ne pas avoir un génome initiateur commun, différent ,bien évidemment, entre celui du règne végétal celui du règne animal.

2. La composition des éléments constitutifs de l'être humain, l'ADN comme de tous les constituants des cellules humaines, est connue ; leur origine est soit la chimie minérale soit la chimie organique. Tout ce que les hommes créent, manipulent, reste cependant inerte et sans avenir propre comme ces mêmes substances le sont dans le corps humain. Les généticiens-biologistes ne savent pas les « mettre en vie », ne savent pas comment ces mêmes substances accourent dès la naissance chez les êtres vivants comme dans le règne végétal et leur permettent de croître puis de mourir

¹ 4 bases et 20 acides aminés.

« Qu'est-ce que la vie ? Ce problème s'est posé à l'homme depuis des millénaires, et malgré les immenses progrès de la biologie, le statut du vivant, reste, quoi qu'on en pense, toujours aussi incertain : les tentatives de réduction de l'organisme au physico-chimique laissent toujours un résidu inexplicable, tandis que les définitions du vivant hésitent entre la tautologie et l'irrationnel. L'étude du vivant, contrairement aux autres sciences, ne peut se passer de l'idée de finalité... Ni la finalité théologique ni la réduction de la vie à la matière, ni les théories vitalistes n'apportent une réponse satisfaisante à l'énigme de la finalité biologique. Quant à l'explication du rôle du hasard, même associé à la sélection naturelle, une analyse probabiliste sérieuse montre qu'elle se heurte à des difficultés insurmontables.

Le fait que la vie soit compréhensible reste donc incompréhensible. C'est une leçon d'humilité pour la raison, mais n'empêche pas la biologie de fonctionner et de progresser »¹.

Les hommes d'aujourd'hui restent pantois, le souffle coupé par l'émotion, la surprise en découvrant cette merveille d'organisation minutieuse, astucieuse dans ses moindres détails qui permet à l'homme d'assurer les fonctions multiples et diverses de son esprit, de son corps, de tous ses organes ; ils en découvrent, en même temps les fragilités et les possibilités de remédier à des conséquences qui peuvent être désastreuses. Ils s'interrogent sur son origine et craignent de n'en point trouver une explication satisfaisante. Les uns se réfugient dans la tranquillité d'un créateur omnipotent, omniscient, d'autres acceptent une évolution depuis l'apparition de la première cellule dans la soupe originelle après le big-bang ; ils s'appuient sur les étapes connues depuis l'*Homo erectus* jusqu'à l'*Homo sapiens sapiens* ou sur les évolutions des plantes comme les angiospermes

¹ *Le Paradoxe de la Vie. Francis Kaplan La Découverte. Janvier 1995.*

ANNEXE N° IV

ENTRETIENS DU RAPPORTEUR ET PARTICIPATION À DES COLLOQUES

Le rapporteur a été reçu, le 15 juin 1999 par M. Claude ALLÈGRE, ministre de l'éducation nationale, de la recherche et de la technologie et le 29 juin 1999, par M. Bernard KOUCHNER, secrétaire d'État à la Santé.

- 24/09/1998
- Centre de recherche de Synthélabo à Bagneux. Visite organisée par le Syndicat national de l'industrie pharmaceutique :
 - M. B. Lemoine, directeur général du SNIP ;
 - M. J. Alexander, assistant du directeur de la recherche de Synthélabo ;
 - M. J.-C. Muller, directeur Veille scientifique et projets extérieurs recherche.
- 06/10/1998
- M. F. Sauer, directeur exécutif de l'EMEA (European Agency for the Evaluation of Medicinal Products).
- 12/10/1998
- « Les inventions biotechnologiques : protection et exploitation ». Colloque organisé par l'Institut de recherche en propriété intellectuelle Henri-Desbois en collaboration avec l'Académie de droit européen de Trèves.
- 13/10/1998
- « Publique et privée, quelles conditions pour une recherche commune ? ». Cercle institutionnel Rhône-Poulenc Rorer.
- 16/10/1998
- « Les médicaments de demain ». Colloque organisé par le Conseil de l'ordre des pharmaciens.
- 25/11/1998
- M. F. Meyer, directeur général de la recherche. Rhône-Poulenc Rorer.
- 27/11/1998
- « Économie-santé » IVe forum international de la gestion de la santé organisé par le groupe « Les Échos ».
- 10/12/1998
- Dr O. Amédée-Manesme, directeur des affaires scientifiques, pharmaceutiques et médicales. Syndicat national de l'industrie pharmaceutique.
- 15/12/1998
- Petit déjeuner de presse :
- Mme C. Tastemain (*Biofutur*) ;
 - M. A. Troubat (*Tableau de bord*) ;
 - Mme M. Perez (*Le Figaro*).

- 16/12/1998 - Pr J.-L. Salzmann, professeur des universités, praticien hospitalier à l'UFR-SMBH de Bobigny ; co-fondateur de la société Génopoiétic.
- 21 et 22/01/1999
- ◆ **Déplacement à Lyon :**
- Laboratoire Pasteur Mérieux Connaught :
 - Mme M.-J. Quentin-Millet, directeur du département recherche ;
 - M. L. Aujame, chef de service, département recherche ;
 - M. C. Méric, chef de projet, département recherche.
 - Société de pharmacie :
 - M. J. Martinon ;
 - Pr. A. Revol.
 - Dr A. Sérusclat, cardiologue et Dr P. Sérusclat, endocrinologue.
 - Centre hospitalier de Lyon-Sud :
 - Pr. G. Bellon ;
 - Pr. F.-N. Gilly.
 - Laboratoire Bio-Mérieux :
 - M. P. Archinard, directeur de la recherche ;
 - M. J.-P. Gayral, directeur R&D microbiologie/sondes.
 - École centrale de Lyon :
 - Dr J.-R. Martin, ingénierie et fonctionnalisation des surfaces, UMR CNRS 5621 ;
 - Dr E. Souteyrand, ingénierie et fonctionnalisation des surfaces, UMR CNRS 5621 ;
 - M. P. Simonet, directeur de recherche CNRS.
- 27/01/1999 - M. B. Tocqué, président directeur général de la société ExonHit Therapeutics.
- 10/02/1999 - Dr F. Thomas, société Bioserve.
- 11/02/1999
- ◆ **Déplacement à Strasbourg :**
- Société Transgène :
 - M. B. Gilly, directeur général ;
 - Dr J.-F. Carmier, directeur du développement pharmaceutique.
 - Institut de génétique et de biologie moléculaire et cellulaire (IGBMC) :
 - Pr. P. Chambon, directeur ;
 - Dr J. Richard, secrétaire général ;
 - Dr J.-L. Mandel, responsable du groupe de génétique humaine.
 - Centre de recherche Synthélabo Biomoléculaire :
 - Mme R. Pruss, directeur.
- 17/02/1999 - Mme G. Berger, directrice du département bio-ingénierie au ministère de l'éducation nationale, de la recherche et de la technologie.

- 09/03/1999 - Pr. A. Revol, professeur émérite à l'université Lyon I, biologiste honoraire des hôpitaux de Lyon.
- 11/03/1999 Réunion à l'Académie des sciences pour l'étude du pré-rapport « Développement et applications de la génomique - L'après-génome », sous la présidence du professeur François Gros, secrétaire perpétuel de l'Académie des sciences.
- 12/03/1999 Colloque organisé par le rapporteur au Palais du Luxembourg sur : « Les conséquences de l'évolution des sciences biomédicales : enjeux de santé et réponse politiques » avec la participation de :
- M. J. Bardet, député ;
 - M. Y. Champey, président de La Fondation Rhône-Poulenc Rorer ;
 - M. J. Dangoumau, professeur de pharmacologie au CHU de Bordeaux ;
 - M. C. Huriet, sénateur ;
 - G. Johanet, directeur général de la Caisse nationale d'assurance maladie ;
 - M. J. de Kervasdoué, professeur d'économie de la santé au Conservatoire national des arts et métiers ;
 - M. J.-M. Le Guen, député ;
 - M. C. Le Pen, professeur d'économie de la santé à l'université Paris IX-Dauphine ;
 - M. E. Levy, professeur d'économie de la santé à l'université Paris IX-Dauphine ;
 - M. C. Pigement, délégué national PS à l'organisation du système de soins et aux professions de santé, membre du comité économique et social ;
 - M. J. Sassard, professeur à la faculté de pharmacie de Lyon ;
 - M. P. Tambourin, directeur général du Génopôle d'Évry.
- 16/03/1999 - Dr P.-H. Gouyon, professeur de génétique à l'université de Paris-Sud-Orsay.
- 19/03/1999 **Visite du Génopôle d'Évry :**
- Génopôle :
 - M. L. d'Auriol, chargé de mission.
 - Centre national de séquençage :
 - Pr. J. Weissenbach, directeur général ;
 - M. W. Saurin, directeur de l'informatique.
 - Centre national de génotypage :
 - M. M. Lathrop, directeur.
 - Conseil général de l'Essonne :
 - M. T. Mandon, vice-président.

- Société Genset :
 - M. P. Brandys, président directeur général ;
 - M. J. Chailloux, responsable de la bio-informatique.
- Infobiogen :
 - M. G. Waissex, directeur.
- Généthon :
 - M. B. Barataud, président ;
 - Dr. O. Danos, directeur scientifique.

28/03 au 02/04/1999

◆ **Déplacement aux États-Unis :**

Boston :

- Accueil par M. O. Bouin, attaché culturel et scientifique ;
- Entretien avec M. M. Portiche, consul général à Boston.
- Société Variagenics :
 - Mme S. Egholm, directeur commercial ;
 - M. P. Rioux, directeur scientifique.
- Eukarion :
 - M. B. Malfroy, directeur général.
- Genzyme :
 - M. A. Wallace, directeur de la stratégie scientifique.
- Biofertec :
 - M. C. Ranoux, président.
- Millenium Biotherapeutics :
 - M. J.-P. Villeval, directeur scientifique.
- Millenium Predictive Medicine :
 - M. C. Van Huffel, responsable de recherche.
- Dana Farber Cancer Institute :
 - Dr Chris Clement, directeur.
- Whitehead Institute for Biomedical Research :
 - M. G. Fink, directeur ;
 - M. R. Weinberg, directeur de recherche ;
 - M. T. Hudson, directeur de recherche.
- Genetix Pharmaceuticals :
 - Dr P. Leboulch, directeur scientifique.

Philadelphie :

- Centre de recherche Rhône-Polenc Rorer (Collegeville) :
 - M. R. Harrison, directeur-criblage à haut débit ;
 - M. J. Salvino, directeur-chimie combinatoire.
- Wyeth-Ayerst Global Pharmaceuticals (Radnor) :
 - M. R. Power, président.

San Francisco :

- Accueil par M. S. Roy, attaché pour la science et la technologie ;
- Entretien avec M. A. Parant, consul général à San Francisco
- Chiron Technologies (Emeryville) :
 - M. J. Escobedo, vice-président recherche et découvertes ;
 - Mme J. Wood, directeur de la communication.
- Protogene Laboratories (Palo Alto) :
 - M. R. Molinari, président directeur général ;
 - M. F. Chatelain, chercheur.
- Genelabs Technologies (Redwood City) :
 - Mme D. C. Bannister, vice-présidente ;
 - Mme C. Edwards, directeur de la recherche.
- Center for Bioinformatics and Computational Genomics, Lawrence Berkeley Laboratory :
 - M. M. Zorn, co-directeur ;
 - Mme S. Spengler, co-directeur.
- Geron Corporation :
 - Dr J. Lebkowski, directeur thérapie génique et cellulaire ;
 - Dr S. Lichsteiner, responsable de la recherche sur les vecteurs ;
 - Dr A. Vasserot, chercheur.

16/04/1999

◆ Déplacement à Grenoble :

- CEA/LETI (Laboratoire d'électronique, de technologie et d'instrumentation) :
 - M. G. Carola, directeur du CEA/Grenoble ;
 - M. C. Roussel, conseiller scientifique ;
 - M. J. Therme, chef du département microtechnologies du LETI ;
 - M. J.-F. Clerc, assistant programme microtechnologies.
- Société Génome Express :
 - M. Y. Laurent, président directeur général.

05/05/1999

- Pr. D. Strosberg, vice président de la Société Hybrigenics et vice-président de l'association France Bio-Tech ;
- M. P. Legrain, responsable scientifique, Société Hybrigenics.

- 18/05/1999 - Pr. B.-P. Roques, membre de l'Académie des sciences, directeur de l'unité de pharmacochimie moléculaire et structurale (Paris V).
- 03/06/1999 **◆ Déplacement à Lille :**
- Biopôle Eurasanté :
 - Pr. A. Demaille, président ;
 - M. J.-F. Mouney, directeur.
 - Université de Lille I :
 - M. M. Dauchet, professeur à l'université de Lille I, chargé de mission auprès du ministre de l'éducation nationale, de la recherche et de la technologie (bioinformatique).
 - Institut Pasteur de Lille :
 - Pr. Capron, directeur général ;
 - M. G. Riveau, chercheur (nouveaux vaccins).
 - Visite de la Société CEREP (criblage à haut débit).
- 01/07/1999 - M. Capdeville, président de la Fédération nationale des syndicats pharmaceutiques.
- 01/07/1999 - M. J.-R. Fourtou, président directeur général de Rhône-Poulenc Rorer.

ANNEXE n° V : Lettre de saisine de l'Office

SÉNAT

—◆—
LE SECRÉTAIRE GÉNÉRAL

République Française

Paris, le 2 juin 1998.

Monsieur le Président,

J'ai l'honneur de vous faire connaître que le Bureau du Sénat, lors de sa réunion de ce jour; a décidé sur la demande de M. Claude ESTIER, de saisir l'Office parlementaire d'évaluation des choix scientifiques et technologiques d'une étude portant sur « *l'évaluation des conséquences des choix scientifiques et techniques en usage dans l'industrie pharmaceutique et notamment du recours au multimedia et aux outils numériques* ».

Je vous prie d'agréer, Monsieur le Président, l'expression de mes très dévoués sentiments.

el f-ds

JCB

Jean-Claude BECANE

Monsieur Henri REVOL
Vice-Président de l'Office parlementaire d'évaluation
des choix scientifiques et technologiques

