

La biotechnologie n'est pas quelque chose de nouveau. La fabrication de la bière, du vin, de yaourt et de fromage remonte aux anciennes civilisations, telles celles des babyloniens, des romains et des chinois. Ce n'est que bien plus tard qu'apparurent les vaccins, la production de substances chimiques de bases (comme le glycérol, l'acide citrique et l'acide lactique) et le développement des antibiotiques. Dans chacun de ces exemples, il y eut exploitation des propriétés existantes de microorganismes. De même, des croisements sexués entre des espèces de plantes apparentées ont engendré des variétés de céréales à haut rendement et résistantes aux maladies. Ces céréales améliorées contiennent de nouvelles combinaisons de gènes et d'allèles qui existent déjà dans les lignées sauvages. Avec le développement des technologies de manipulation génétique dans les années 1970, la perspective a totalement changé. Pour la première fois, il a été possible de synthétiser par des microorganismes des composés qu'ils n'avaient jamais synthétisés auparavant. On a, par exemple, produit de l'insuline dans *E. coli* (Johnson, 1983). Toutes sortes de protéines d'intérêt commercial ou thérapeutique ont rapidement été produites dans des bactéries, principalement dans *E. coli*, et l'industrie biotechnologique moderne était née. L'extension aux plantes et aux animaux des techniques de manipulation des gènes mises au point chez les bactéries, s'est accompagnée d'une expansion de l'industrie biotechnologique afin d'exploiter les nouvelles possibilités qui s'offraient. Aujourd'hui, l'exploitation commerciale des techniques de manipulation génétique présente des facteurs très divers, comme le montre la figure 20.

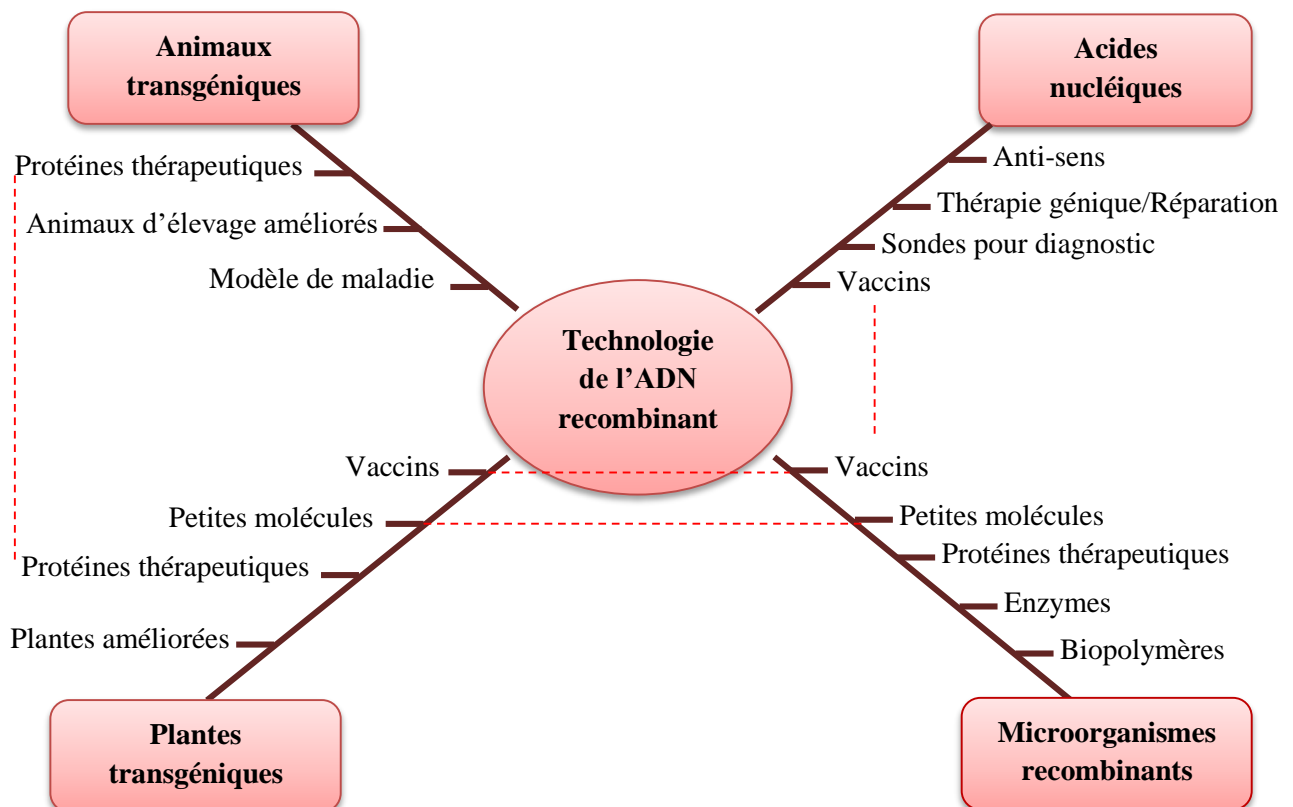


Fig.20 : Différentes possibilités exploitées par la technologie de l'ADN recombinant

VI.1. Applications de la transgénèse

Les exemples d'application effectifs de la transgénèse ou ceux au stade de recherche sont nombreux et peuvent être regroupés en quatre grandes catégories : les améliorations agronomiques, qualités alimentaires, production de molécules à intérêt industriel, et production de molécules destinées à la santé humaine.

VI.1.1 Agronomie et environnement

Les deux applications concrètes les plus utilisées dans ce domaine sont l'introduction de gènes de résistance pour la lutte contre les insectes nuisibles et l'insertion de gènes de tolérance aux herbicides pour la lutte contre les mauvaises herbes. Les travaux de recherche se sont multipliés pour la lutte contre les champignons et les virus, la tolérance à la sécheresse ou encore une meilleure utilisation de l'azote, etc. La transgénèse est utilisée quand les solutions agronomiques ou la sélection classique n'apportent pas de réponses efficaces, ces plantes transgéniques vont améliorer l'efficacité de l'agriculture, tout en respectant encore mieux l'environnement.

VI.1.1.1. Résistance à des insectes

La principale application du transfert de gènes chez les végétaux concerne la résistance aux insectes. Au cours de l'évolution, les plantes ont acquis des mécanismes de défense à l'égard des insectes. Le génie génétique a pour but d'exploiter ces mécanismes naturels ou de trouver de nouvelles résistances et de les incorporer à des plantes sensibles. Jusqu'à présent, pour toutes les variétés mises sur le marché, les gènes introduits proviennent de la bactérie "*Bacillus thuringiensis*" codant pour une ô-endotoxine dans la plante transgénique (d'où l'abréviation Bt accolée aux noms des plantes de ce type). Lorsque les insectes nuisibles s'attaquent à la plante, ils sont tués en absorbant la protéine Bt, de sorte que les plantes génétiquement modifiées se protègent elles-mêmes. Les toxines Bt de ladite bactérie sont déjà utilisées depuis plus de 30 ans pour lutter contre les ravageurs, par épandage des toxines produites par cette bactérie sur les surfaces agricoles cultivées. Cette application directe de la bactérie ou des toxines présente un certain nombre d'inconvénients par rapport à l'approche du génie génétique: le coût élevé des préparations industrielles, leur faible stabilité, qui nécessite le renouvellement des applications, et l'insuffisance de leur impact. Cependant, pour les plantes transgéniques et comme cette toxine est produite dans la plante, la protéine est protégée des facteurs climatiques et son efficacité perdure quel que soit le moment de l'attaque. L'agriculteur est ainsi assuré d'une bonne protection de ses cultures, qui est pratiquement de 100 % vis-à-vis des larves de pyrale de première génération. Plusieurs équipes ont obtenu des tabacs, des pommes de terre, des cotons, des tomates, des maïs résistants à des insectes grâce à cette source de gènes. Dans le cas du maïs, la résistance à la pyrale est conférée par le gène Cry A, appelé communément Bt. Ce gène permet dans les cellules du maïs, la production d'une protéine qui se transforme en toxine dans le tube digestif de la pyrale. Chez les autres animaux et chez l'homme, cette protéine est simplement digérée sans aucun effet toxique.

VI.1.1.2. Résistance à des herbicides

Le contrôle des mauvaises herbes est essentiel pour une agriculture efficace, dont les herbicides jouent un rôle important à cet égard. Les herbicides totaux le glufosinate et le glyphosate (sont deux principes actifs des herbicides totaux) introduits depuis 1980 respectent beaucoup mieux l'environnement que les herbicides sélectifs. Ils sont dégradés plus rapidement et ont une durée de vie dans le sol plus courte. Toutefois, ils n'agissent pas de manière sélective contre certaines mauvaises herbes, mais

nuisent aussi aux plantes cultivées. Ils ne peuvent donc avoir qu'un usage limité. Pour remédier à cet inconvénient, de nombreuses plantes transgéniques ont été développées pour obtenir une tolérance à ces herbicides. Les gènes de résistance à l'herbicide introduits dans une plante empêchent la matière active d'agir sur celle-ci, transformant l'herbicide total en herbicide sélectif sur cette plante. La création de plantes tolérantes aux herbicides telles que des variétés de betterave, de colza, de coton, de maïs, de pomme de terre et de soja permet l'utilisation de matières actives au profil écotoxicologique favorable respectant l'environnement et à large efficacité.

VI.1.1.3. Résistance aux champignons, bactéries et virus

Certaines plantes sont dotées de mécanismes de défense naturels contre les organismes nuisibles ; elles ont, par exemple, des surfaces de feuilles particulières et une lignification accentuée des parois cellulaires. Ces mécanismes de défense peuvent être déclenchés par les organismes nuisibles eux-mêmes ou par les produits chimiques, les situations environnementales, etc. Certaines plantes possèdent des enzymes qui fissurent des éléments de la paroi cellulaire des champignons et neutralisent ainsi les organismes nuisibles. D'autres sont dotées de fongicides propres qui sont synthétisés après une infection par un champignon. Le génie génétique vert exploite ces mécanismes de défense naturels. Ainsi, pour accroître la capacité de résistance des plantes aux champignons, il procède notamment par transfert de gènes végétaux qui protègent certaines espèces des attaques. Exemple de réussite dans ce domaine : on est parvenu à transférer des gènes d'enzymes dans le but d'accroître la capacité de résistance des variétés de raisin vis-à-vis du faux et du vrai mildiou. En outre, des efforts sont déployés pour transférer par génie génétique des gènes de bactéries contre les infestations et accroître la capacité de résistance des plantes. Les virus sont également responsables de pertes importantes en production végétale. Or il existe peu de mesures appropriées de lutte contre les maladies des plantes dues à des virus. Par transgénèse, il était possible d'obtenir des plantes résistantes aux virus. Ces plantes transgéniques synthétisent des protéines qui bloquent la multiplication et le développement des virus, principalement pour la culture de la betterave à sucre, de la pomme de terre et de la tomate. Ainsi, il a été possible d'obtenir des courgettes et des melons résistant au virus de la mosaïque du concombre.

VI.1.1.4. Tolérance à la sécheresse

Les contraintes environnementales comme la sécheresse, la salinité des sols et les basses températures (stress abiotiques) affectent la croissance et le rendement des plantes. De nombreuses chaînes métaboliques sont généralement affectées au cours de ces contraintes. Les sélectionneurs ont caractérisé et développé des variétés tolérantes à la sécheresse grâce à la connaissance plus précise des gènes et de leur rôle, et aux capacités d'analyse des plateformes de phénotypage. Grâce aux manipulations du génie génétique, plusieurs variétés de maïs transgéniques ont été créées par l'introduction de gènes impliqués dans la réponse à un déficit hydrique. Par exemple, un maïs plus tolérant à la sécheresse résulte de l'introduction de gènes issus des bactéries *Escherichia coli* ou *Bacillus subtilis* et codant une ARN chaperonne CSP « *cold shock protein* » facilitant l'assemblage des édifices protéiques complexes. L'expression des gènes CspA (*E. coli*) ou CspB (*B. subtilis*) permet un maintien de la photosynthèse et donc de la croissance, au stade végétatif comme au stade reproducteur, lorsque les plantes sont soumises à un déficit hydrique. Les augmentations de rendements moyens sont comprises entre 4.6% et 7.5% par rapport aux plantes contrôles. D'autres sociétés semencières, telles que les sociétés Pioneer, Syngenta et Limagrain mènent le même type de programme et avancent des échéances de cinq à sept ans.

VI.1.1.5. Meilleure utilisation de l'azote

La connaissance fine des mécanismes d'absorption racinaire et de la gestion agronomique de l'azote sont deux facteurs clefs de l'utilisation de la fertilisation azotée. De nombreuses études sont conduites et les premiers résultats montrent que l'efficacité de l'absorption et du métabolisme de l'azote est régulée par plusieurs groupes de gènes. Elle est d'autant plus complexe qu'elle est étroitement liée (parfois corrélée) à d'autres mécanismes globaux comme la photosynthèse ou des réponses à des stress biotiques ou abiotiques, etc. Un certain nombre de gènes ont été identifiés, ils sont de bons indicateurs de l'absorption et du métabolisme de l'azote, et pourraient donc être utilisés dans des stratégies de transgénèse. Ainsi la surexpression de la glutamine synthétase chez le blé et le maïs, ou celle de l'alanine amino-transférase chez le colza ou le riz induisent : une croissance plus importante de la plante et donc de la biomasse, des augmentations du nombre et de la taille des grains, ou encore un développement de systèmes racinaires plus fins, plus denses et plus ramifiés propices à une meilleure absorption de l'azote. Chez la plante modèle *Arabidopsis thaliana*, un facteur de transcription (protéine régulatrice de l'expression des gènes) intervenant dans les métabolismes azoté et carboné a été étudié. Sa surexpression favorise l'efficacité d'utilisation de l'azote. Ce résultat montre qu'il pourrait être intéressant de surexprimer des gènes régulateurs. Ces projets sont en cours de développement et n'ont pas atteint le stade de la commercialisation.

VI.1.1.6. Réduire les polluants présents dans les sols

Grâce aux plantes génétiquement modifiées, il est également possible d'analyser les polluants présents dans le sol ou dans l'eau et ensuite de les éliminer. C'est ainsi qu'en Inde et au Bangladesh, par exemple, l'eau potable présente une concentration élevée d'arsenic, qui dépasse largement la valeur limite fixée par l'Organisation mondiale de la santé. Les plantes génétiquement modifiées sont capables d'absorber ces substances nocives par leurs racines. L'Institut Robert-Koch travaille, par exemple, au développement de peupliers qui absorbent les métaux lourds du sol.

VI.1.1.7. Animaux d'élevage améliorés et modèles de maladie

La transgénèse animale a été réalisée avec succès pour la première fois en 1982. Une série de projets de transgénèse sont actuellement conduits dans le but d'améliorer la croissance et les caractéristiques liées à la carcasse, d'accroître la production de lait et de modifier sa composition, de renforcer la résistance aux maladies et d'améliorer la production de la laine. Cependant, chez les animaux d'élevage, l'application transgénique qui s'est révélée la plus fructueuse à ce jour est l'utilisation d'animaux comme systèmes d'expression pour la production de protéines à haute valeur ajoutée "gene-pharming". Le transfert de certains organes (cœur, rein, poumon...) et cellules (pancréas, foie) de porcs transgéniques à l'espèce humaine (appelé xérogreffes) est encore un objectif qui ne paraît plus inaccessible. Depuis de nombreuses années, les animaux transgéniques ont été utilisés également comme modèles pour les maladies humaines, parce qu'on peut servir pour effectuer des analyses détaillées des causes moléculaires de la maladie et pour tester de nouvelles stratégies thérapeutiques avant les essais de phases cliniques chez l'homme. Cependant, avant l'évènement de la technologie des animaux transgéniques, les modèles de maladies héréditaires (c'est-à-dire les maladies ayant une cause génétique) étaient difficiles à se procurer. Ils pouvaient être obtenus en tant que mutants spontanés, ou qu'animaux ayant la mutation souhaitée que l'on identifiait par criblage après mutagenèse, ou encore comme lignées d'animaux d'élevage affectés issus de croisement sélectifs. Les manipulations génétiques offrent maintenant une série de stratégies de remplacement pour la création de modèles spécifiques d'une maladie. Certains des premiers modèles transgéniques étaient des souris prédisposées à certains types de cancers.

VI.1.2. Alimentation

VI.1.2.1. Amélioration des qualités nutritionnelles

En alimentation animale, les recherches vont dans le sens d'un développement de plantes permettant un meilleur bilan nutritionnel avec une proportion équilibrée entre les différents acides aminés, en évitant l'apport de compléments nutritifs. Des tentatives d'amélioration, par voie classique, des principales espèces de légumineuses et des céréales cultivées n'ont pas conduit à des progrès spectaculaires des qualités nutritionnelles des cultivars obtenus. Les gènes codant pour de nombreuses protéines de réserve ont déjà été clonés et caractérisés. Actuellement, il est possible d'obtenir des plantes de maïs, colza, soja à teneurs élevées en acides aminés, notamment en méthionine et lysine, et des maïs enrichis en huile. Concernant l'alimentation humaine, des travaux sont menés pour diminuer les propriétés allergènes du riz et du soja. Pour obtenir ce résultat, on cherche à introduire dans la plante un transgène qui inhibe la synthèse de la protéine allergisante.

VI.1.2.2. Conservation des fruits

Les fruits transgéniques peuvent être récoltés à un stade de maturation plus avancé (maturation des fruits retardée), ils sont d'une part plus savoureux et d'autre part ont une aptitude au transport améliorée réduisant les pertes, avec leur meilleure conservation. Le melon est le premier fruit génétiquement modifié obtenu par un laboratoire de recherche français. La synthèse de l'éthylène, hormone responsable de la maturation des fruits, a été en partie inhibée par l'introduction d'un gène anti-sens. Ainsi, le détachement du fruit est retardé et le melon maintenu sur pied continue d'accumuler des sucres. Un autre exemple d'un fruit modifié génétiquement est la célèbre tomate " *flavr-savr* " de la société Calgene, commercialisée depuis 1994 aux Etats-Unis. Cette tomate exprime en plus faible quantité une enzyme provoquant le ramollissement de la tomate au moment de la maturation, ce qui lui permet de conserver pendant une plus longue durée que la tomate conventionnelle une texture ferme.

VI.1.2.3. Transformation agroalimentaire et amélioration des qualités organoleptiques des aliments

Dans ce domaine, les champs d'application potentiels sont très variés. En effet, la maturation des fruits qui correspond à un ensemble de modifications physiologiques, biochimiques et structurales est due à l'expression des gènes impliqués dans les changements de couleur, l'augmentation de la teneur en sucres, la diminution de l'acidité, la synthèse d'arômes et le ramollissement. Ces gènes constituent donc des voies potentielles d'amélioration de la saveur des fruits. Il peut s'agir également de la production des protéines impliquées dans des procédés agro-alimentaires, ou de la modification des caractéristiques des végétaux pour optimiser leur utilisation. Des travaux ont permis de modifier la teneur en amidon chez la pomme de terre, afin d'augmenter la teneur en matière sèche et qu'elle sera mieux adaptées à la fabrication de fécule, de purée ou de chips. Des gènes ont également été transférés chez le colza pour modifier la teneur en acides gras ou pour obtenir des huiles contenant des nouveaux acides gras recherchés en alimentation humaine. Le tableau 1 présente quelques exemples des applications orientées sur l'amélioration de la qualité, nutritionnelle et gustative des aliments.

Tableau 1 : Quelques exemples sur l'amélioration des aliments par transgénèse

Aliment	Applications
Blé	Amélioration des caractéristiques requises pour la panification
Huiles végétales (colza, tournesol)	Modification de la composition en acides gras pour répondre aux besoins nutritionnels (maladies cardio-vasculaires) et pour faciliter la fabrication de margarine à partir de certaines huiles
Pomme de terre	Augmentation de la teneur en amidon pour des utilisations nutritionnelles (purée, frites absorbant moins d'huile de friture), réduction du brunissement (frites), amélioration de propriétés organoleptiques
Laitue, épinard	Réduction de la teneur en nitrates en augmentant l'expression de nitrate-réductase.
Tomate, melon, brocoli	Augmentation de la durée de conservation des fruits et légumes, en France, l'INRA développe des recherches pour tenter de réguler la production d'éthylène, substance qui participe à la maturation du fruit aux USA, une tomate transgénique a été commercialisée en 1994. Un procédé similaire a permis à une équipe de recherche Ensat-Inra d'obtenir un melon dont la conservation et la teneur en sucre sont augmentées mais qui n'est pas encore commercialisé
Riz	Diminution des propriétés allergisantes
Soja	Enrichissement en acides aminés essentiels

VI.1.3. Industrie

Les biotechnologies ouvrent de nombreuses perspectives dans les domaines de l'industrie, en produisant des nouvelles molécules (*Molecular Farming*) et en améliorant les procédés industriels et la qualité des produits.

VI.1.3.1. Fabrication du papier

Le blanchiment est l'élimination de la lignine (qui est l'un des constituants majeurs du bois) représente une étape nécessaire dans la fabrication du papier pour des raisons esthétiques ainsi que pour améliorer les qualités du produit final. Traditionnellement, ils ont utilisé pour le blanchiment de la pâte kraft des composés chlorés produisant des déchets toxiques (mutagènes, cancérigènes, bioaccumulables) qui entraînent de nombreuses altérations des systèmes biologiques, l'utilisation de ces agents blanchissants est interdite dans divers États développés. Des travaux conduits par la recherche publique française ont permis de connaître les gènes impliqués dans la synthèse des lignines et de développer des variétés de peupliers transgéniques, chez lesquels le taux de lignine est fortement réduit. Ceci facilite le blanchissement de la pâte à papier et donc réduit l'impact sur l'environnement. Le même type de travail a été réalisé sur l'eucalyptus.

VI.1.3.2. Huiles industrielles

Elles sont synthétisées à partir de matières premières fossiles (pétrole), dont les ressources sont limitées. Il est donc nécessaire de s'orienter vers d'autres ressources renouvelables. Parmi les nombreux programmes de recherche, on peut citer celui destiné à l'obtention d'un colza transgénique à haute teneur en acide gras érucique ou ricinoléique pour la production de lubrifiants, de matières plastiques, etc. Cette stratégie devrait favoriser le développement de lubrifiants et de plastiques biodégradables.

VI.1.3.3. Colorants

Un exemple original est l'obtention de cotons transgéniques de couleur, grâce à l'introduction d'un gène bactérien ou végétal codant pour un pigment. Ceci évitera l'utilisation de teintures chimiques difficilement recyclables

VI.1.4. Santé humaine

VI.1.4.1. Protéines thérapeutiques (*gene pharming*)

Pharming au lieu de Farming « agriculture en anglais » est un jeu de mots qui indique que l'on utilise des animaux et des plantes transgéniques pour produire des protéines recombinantes thérapeutiques (à intérêt pharmaceutique). La synthèse de protéines recombinantes dans des cellules animales a de nombreux avantages par rapport aux systèmes d'expression microbiens, dont le plus important concerne les modifications post-traductionnelles correctes qu'effectuent les cellules animales. Toutefois, la culture de cellules animales à grande échelle coûte chère, à cause de la quantité de milieu et de sérum requise et la nécessité de conditions de croissance précises et constantes. La production d'hormone de croissance dans le sérum de souris transgéniques a apporté pour la première fois la preuve de la possibilité de produire des protéines recombinantes en continu dans des fluides organiques. Cinq ans plus tard, plusieurs groupes ont fait état de la sécrétion de protéines recombinantes dans le lait de souris. Ces résultats avaient tous été obtenus en joignant le transgène à un promoteur spécifique de la glande mammaire, tel que celui de la caséine. Les premières protéines produites de la sorte, furent la β -lactoglobuline de mouton et l'activateur tissulaire humain du plasminogène. Les plantes constituent une alternative utile aux animaux pour la production de protéines recombinantes parce que leur culture ne coûte pas cher et que le passage du niveau de l'expression de laboratoire à la production commerciale est facile, en évitant aussi les problèmes de contaminations rencontrés avec la culture des cellules animales. De ce fait, l'utilisation des plantes comme système de production pour la synthèse de protéines recombinantes et d'autres molécules particulières rencontre un grand intérêt. Le tableau 2 présente quelques protéines recombinantes thérapeutiques produites par des animaux et des plantes transgéniques.

VI.1.4.2. Vaccins

Des chercheurs canadiens ont mis au point des plantes transgéniques capables de produire d'importants vaccins. De tels vaccins présenteraient différents avantages :

- Ils seraient moins coûteux.
- Ils pourraient être conservés à température ambiante dans l'emballage naturel que constitue le fruit.
- Ils seraient plus sûrs et efficaces que les vaccins classiques.

Fig.02 : Protéines recombinantes produites dans les sécrétions de bioréacteurs animaux ou exprimées dans des systèmes végétaux

Espèce	Produit
Souris (lait)	Hormone de croissance humaine
Souris (lait)	Fibrinogène humain
Souris (urine)	Hormone de croissance humaine
Mouton (lait)	α 1-antitrypsine humaine
Lapin (lait)	Erythropoïétine humaine
Lapin (sérum)	α 1-antitrypsine humaine
Porc (sérum)	Anticorps recombinants
Chèvre (lait)	Activateur tissulaire du plasminogène humain
Tabac	Albumine sérique
Tabac	Facteur de croissance épidermique
Tabac	Hémoglobine
Pomme de terre	Albumine sérique
Tournesol	Hormone de croissance
Riz	Interféron α

Un gène humain a été ajouté à une lignée de maïs, ce qui a entraîné la sécrétion, par le maïs, d'anticorps humains destinés à adhérer aux cellules tumorales et à les tuer. Ces anticorps sont au stade d'essais cliniques sur des patients atteints d'un certain type de cancer. Des variétés de soja génétiquement modifié produisant des anticorps humains contre le virus de l'herpès simplex de type II, ont été également obtenues dans l'objectif de produire un médicament contre l'herpès. Une équipe de l'université de Floride a annoncé en 2007 avoir produit un antigène - une protéine immunologique extraite des chloroplastes de tabac transgéniques -qui peut être utilisé, à moindre coût, dans la production de vaccin contre l'amibiase (parasite du gros intestin).

VI.2. Génétique humaine

La biotechnologie de l'ADN recombinant chez l'Homme sert à diagnostiquer et à traiter une maladie.

VI.2.1. Dépistage et diagnostic génétique

On appelle maladie génique, une maladie transmise des parents à l'enfant par l'intermédiaire des gènes portés par les gamètes. L'examen d'un arbre généalogique permet parfois d'évaluer le risque statistique de maladie génique chez un individu ou un fœtus. Le diagnostic génique se fait à partir de l'utilisation de sondes spécifiques et d'enzymes de restriction. Par exemple, le diagnostic de la

mucoviscidose, dont les mutations peuvent faire apparaître ou disparaître certains sites de restriction dans les gènes et modifier ainsi le nombre et la longueur des fragments d'ADN. Le diagnostic précoce des maladies géniques pose de nombreux problèmes éthiques car souvent il n'existe pas de traitement. Actuellement et avec le développement de la technologie d'ADN recombinant, il est devenu possible de dépister et diagnostiquer même une anomalie chromosomique, comme par exemple la trisomie 21.

VI.2.2. Thérapie génique

La thérapie génique est toute procédure utilisée pour traiter une maladie en modifiant l'information génétique dans les cellules du patient. En théorie, on distingue la thérapie génique germinale de la thérapie génique somatique. La première consiste en des modifications irréversibles du génome par correction d'une cellule germinale, entraînant une transmission du nouveau caractère à la descendance. Cette génothérapie est inapplicable à l'homme pour des raisons techniques mais surtout éthiques. La thérapie génique somatique consiste à modifier le code génétique des cellules somatiques de l'organisme de sorte que le caractère ajouté ne soit pas transmis à la descendance du patient. Le transfert de gènes peut s'effectuer sur des cellules en culture, qui seront ensuite réintroduites chez le patient, mais l'ADN peut être transféré dans le patient *in vivo*, soit directement, soit à l'aide de vecteurs viraux. L'approche *ex vivo* qui consiste à modifier génétiquement les cellules en laboratoire avant de les réinjecter au malade, ne peut s'appliquer qu'à certains tissus, comme la moelle osseuse, dont les cellules peuvent être mises en culture. La thérapie génique peut servir pour traiter des maladies causées par des mutations dans l'ADN du patient lui-même (maladie héréditaire, cancers), aussi bien que des maladies infectieuses, et est particulièrement intéressante dans les cas où aucun traitement conventionnel n'existe ou lorsque ces traitements présentent un risque. Les stratégies possibles sont les suivantes :

- La thérapie par addition de gène (GAT), lorsque on ajoute de l'ADN au génome dans le but de remplacer un produit de gène qui fait défaut ;
- La recombinaison homologue au locus du gène pour corriger les allèles mutants.
- La thérapie par inhibition de gène, qui utilise des techniques comme l'expression d'anticorps intracellulaires pour traiter des maladies agissant de façon dominante. L'ablation spécifique de certains gènes.

VI.3. Production de protéines recombinantes (par des cellules en culture) et des vaccins à intérêt pharmaceutique

La technologie de l'ADN recombinant est largement utilisée par l'industrie pharmaceutique, où actuellement, un médicament sur six est issu du génie génétique. Tout a commencé en 1941, avec la création de thérapies à base de pénicilline, un antibiotique découvert à la fin des années vingt. Dès lors, ces pratiques n'ont jamais cessé et se sont même amplifiées. Aujourd'hui, l'exploitation de la technologie d'ADN recombinant permet de produire à grande échelle des hormones, des enzymes et des molécules diverses qui sont utiles à la création de médicaments permettant de soulager ou de guérir certains dysfonctionnements de l'organisme.

VI.3.1. Insuline recombinante

Avant d'apprendre à produire l'insuline par des microorganismes, les mammifères (chiens, les porcs ou les bœufs) ont été une source importante de cette hormone, semblable à l'insuline humaine. Bien que, cette pratique nécessite de purifier l'hormone produite par ces animaux. Ces insulines d'origines

animales ont été administrées sans danger pendant de nombreuses années et continuent de l'être. Le nombre de cas de diabètes augmentant continuellement, il a fallu trouver une autre méthode afin de produire de l'insuline en grande quantité et à faible coût. Avec le développement du génie génétique, on s'est donc orienté vers les microorganismes. Depuis 1983, la production à grande échelle de l'insuline est réalisée commercialement avec la bactérie *E. coli* et en 1987, on a également commencé à produire de l'insuline avec la levure *Saccharomyces cerevisiae*. Des variantes de l'insuline humaine à résorptions et action rapide (Lispro et Aspart) ou à action prolongée (GLargine et Detomir) sont aussi préparées selon la technique recombinante (analogue d'insuline).

VI.3.2. Interféron

Les interférons (IFN) constituent une famille complexe de protéines naturelles (glycoprotéines de la famille des cytokines). Ils sont naturellement produits par les cellules du système immunitaire, mais également par d'autres types cellulaires (cellules dendritiques, mononuclées, épithéliales, etc.) en fonction des sous types. Ce sont des protéines secrètes par les cellules infectées par des virus inducteurs mais également aux autres virus. Les interférons utilisés en thérapeutique sont des protéines recombinantes humaines possèdent les mêmes propriétés que les interférons naturels, incluant l'activité anti-virale, antimitotique et immuno-modulatrice. L'interféron alfa 2 est parmi les premiers interférons enregistrés en 1986, il est produit à partir d'une souche d'*E. coli*. Il possède plusieurs indications: l'hépatite chronique B et C, lymphome cutané à cellule T, la leucémie et le cancer du rein à un stade avancé.

VI.3.3. Enzymes recombinantes

La demande industrielle d'enzymes est toujours en constante augmentation, dont le marché mondial des enzymes étant dominé par les industries alimentaire et pharmaceutique. Cependant, l'utilisation de ces biocatalyseurs est encore limitée en raison des faibles rendements, de la faible reproductibilité et de leur faible performance (n'est pas toujours optimale sous leur forme native). La technologie de l'ADN recombinant et l'ingénierie des protéines représentent des moyens appropriés pour surmonter ces inconvénients, permettant ainsi la production de nouvelles enzymes de haut niveau avec des propriétés améliorées qui répondent aux exigences industrielles spécifiques. Les enzymes recombinantes sont de plus en plus utilisées non seulement dans l'industrie alimentaire, mais également dans l'industrie pharmaceutique. Dans ce domaine, les enzymes recombinantes sont exploitées comme biocatalyseurs pour la préparation d'intermédiaires de médicaments chiraux, et de nombreux médicaments enzymatiques recombinants ont été approuvés ou sont en cours d'essai pour le traitement des déficiences génétiques, du cancer et d'autres troubles.

VI.3.5 Vaccins (HB)

Depuis la découverte du virus de l'hépatite B (HBV), la vaccination continue à être la meilleure manière de se protéger de cette pathologie. L'hépatite B put être évitée, et la vaccination universelle est probablement la meilleure. Les nouvelles techniques mises au point permettent de n'insérer que l'antigène et non pas le virus dans sa totalité. Grâce au génie génétique, il est donc beaucoup plus facile de contrôler les caractéristiques d'un vaccin et de travailler avec plus de précision. Il existe deux types de vaccins de l'hépatite:

- Les vaccins recombinants ou produits génétiquement sont fabriqués en utilisant des levures (*Saccharomyces cerevisiae*) ou des cellules de mammifères dans lesquelles le gène HBsAg (antigène de surface HB) a été inséré.

- Des vaccins dérivés de plasma humain (PDV) sont préparés à partir de HbsAg purifié venant du plasma de patients ayant une infection HBV chronique. Plus de 15 dérivés de plasma humains (PDV) sont distribués sous licence dans le monde.