

Le clonage animal : La fin du « Jeu de l'amour et du hasard »...

Fraslin Jean-Marc, UMR INRA-Agrocampus Rennes, CS 84215, 65, rue de Saint-Brieuc, 35042 Rennes, France

En 1730, Pierre Carlet de Chamblain de Marivaux publie *Le jeu de l'amour et du hasard*. Les connaissances en Génétique de l'époque ne lui permettent pas d'imaginer que le titre de sa comédie sentimentale est une excellent résumé des mécanismes de la Reproduction (ou plus exactement de la procréation... Nous reviendrons sur cette distinction...).

Dans la nature, la reproduction des animaux est en effet régie par un subtil jeu entre le hasard et l'amour ...

L'amour, car il faut impérativement la rencontre harmonieuse d'un gamète* mâle (un spermatozoïde*) et d'un gamète femelle (un ovocyte*), lors de l'étape de fécondation, pour démarrer le développement d'un futur nouvel individu. Chaque gamète, mâle ou femelle, contient un « stock » simple de chromosomes (haploïde*), dans un pronucleus*, la fusion des deux pronuclei donnant donc un stock double de chromosomes, permettant le développement d'un animal diploïde*.

Le hasard, car cette rencontre se fera, selon les espèces, entre quelques ovules (1 à 20 environ) et quelques millions, voire milliards de spermatozoïdes. Or, chacun de ces gamètes possède un patrimoine génétique unique, dû aux nombreuses recombinaisons qui se produisent lors de leur maturation, lors de la méiose*. On voit donc que l'individu issu de cette fécondation est le fruit d'une immense loterie, d'un gigantesque brassage génétique. Tous les descendants issus des deux mêmes parents possèdent bien une moitié du patrimoine génétique paternel et une moitié du patrimoine maternel, mais aucun d'entre eux n'est semblable (hormis les cas de vrais jumeaux, sur lequel nous reviendrons...)

Depuis que l'Homme maîtrise l'élevage, il a tenté de réduire la part du hasard, en ne laissant pas mâles et femelles s'accoupler aléatoirement, et en choisissant les reproducteurs. C'est ce qu'on appelle la sélection. Cette méthode ne diminue pourtant en rien le hasard lié aux stocks chromosomiques des gamètes et à leur probabilité de rencontre.

Dans la deuxième moitié du 20^{ème} siècle, c'est la part de « l'amour », et plus précisément l'accouplement, que les zootechniciens ont décidé de réduire dans la procréation des animaux de rente, par l'intermédiaire de l'insémination artificielle d'abord, puis des méthodes de fécondation *in*

vitro. Plus d'accouplement naturel, donc, mais l'intervention humaine par l'intermédiaire du vétérinaire inséminateur ou du biologiste. Ces méthodes ont parallèlement diminué aussi la part du hasard, les gamètes impliqués étant prélevés chez quelques animaux particulièrement performants. Mais une fois encore, la loterie de la méiose et l'aléatoire de la fécondation conservaient toute leur incertitude...

Les premières expériences de clonage avaient pour but de supprimer purement et simplement cette part d'aléatoire.

Mais qu'est ce qu'un clone ?

Les clones existent à l'état naturel, en particulier chez les végétaux. La technique de bouturage n'est autre que du clonage. La bouture, préalablement prélevée sur une plante et correctement remise en terre porte exactement le même patrimoine génétique que le végétal d'origine et redonnera une plante absolument semblable.

Cette technique de reproduction était jusqu'à présent une spécificité végétale et ne s'appliquait pas chez les animaux. Sauf pour les vrais jumeaux ! Dans ce cas, un ovule fécondé (naturellement ou artificiellement) par un spermatozoïde commence à se diviser, débutant normalement la croissance embryonnaire. Mais un « accident » va entraîner la scission de l'embryon, aboutissant à deux demi-embryons indépendants, mais en tous points semblables. Si cette séparation a eu lieu à un stade très précoce (deux cellules, par exemple), chacun de ces deux demi-embryons va pouvoir présenter un développement normal, donnant ainsi naissance à deux individus génétiquement semblables. (Rappelons que pour les faux jumeaux, deux ovules distincts fécondés par deux spermatozoïdes distincts vont de développer simultanément, pour aboutir à deux individus aux caractéristiques génétiques comparables à celles de n'importe quels membres d'une fratrie).

Cette capacité d'obtenir des clones de vrais jumeaux a intéressé les biologistes de la reproduction, dans la deuxième moitié du 20^{ème} siècle. Maîtrisant de mieux en mieux la fécondation *in vitro*, ils ont augmenté la probabilité de séparation « accidentelle » de l'embryon en pratiquant une scission chirurgicale au stade deux, voire quatre ou huit cellules, puis, en réimplantant ces clones dans les utérus de femelles receveuses, et obtenant ainsi la naissance d'autant d'individus génétiquement identiques. Mais même avec la sophistication de telles techniques, le point de départ reste la fécondation de deux gamètes, et les résultats obtenus restent donc malgré tout le fruit du « Jeu de l'amour et du hasard »...

Technique du clonage

L'idée du clonage n'est pas récente. Dès 1935, soit 3 ans après la publication du *Meilleur des mondes* d'Aldous Huxley ..., Hans Spemann imaginait la possibilité de greffer des noyaux de cellules diploïdes à des ovocytes énucléés. Il s'agit donc, dans ce qui n'était alors qu'une hypothèse, d'anéantir tout hasard, puisque le développement de l'embryon se ferait à partir du patrimoine génétique d'une cellule adulte, diploïde, sans remaniement méiotique ni fusion de gamètes. Il ne s'agit plus là de procréation, mais bien de reproduction, au sens « photocopie » du terme. L'animal engendré par une telle méthode serait donc le clone parfait de l'animal donneur de cellules.

En 1962, le britannique John Gurdon annonce qu'il est parvenu à un tel transfert chez des batraciens à partir d'un noyau de cellule adulte de Xénope* . Il lui faudra attendre 1970 pour valider cette découverte. Les tentatives pour adapter la technologie aux mammifères dureront une trentaine d'années, pour aboutir à la naissance de Dolly, la plus célèbre des brebis, en juillet 1996 (Wilmut *et al.*, 1997).

Intérêts

Et pourquoi vouloir faire des clones ? Quels sont les intérêts potentiels du clonage ?

A la naissance de Dolly, Ian Wilmut, répondant aux journalistes qui lui demandaient quel était l'intérêt de sa « créature », évoqua des avantages zootechniques. La standardisation des animaux d'un cheptel permettrait de faciliter le travail de l'éleveur. L'uniformisation des traitements vétérinaires, des rations alimentaires, de la qualité des produits, de l'ensemble des pratiques de la conduite d'élevage allait apporter aux éleveurs un nouveau confort de travail. Ce « progrès ergonomique » apparaît toutefois bien mince en regard du coût d'obtention de ces animaux...

D'autres applications du clonage pourraient présenter certains intérêts... Ainsi, des animaux particulièrement performants pour certains caractères zootechniques peuvent souffrir de stérilité. Le clonage pourrait apparaître comme une possibilité de leur assurer une « descendance ». Cette application est d'autant plus évidente dans le domaine du sport hippique, où les mâles les plus performants sont presque systématiquement castrés dans le but d'adoucir leur caractère. De tels champions hongres pourraient, à l'issue de leur carrière, rejoindre des haras, pour y donner non pas leur sperme à la manière des étalons, mais leurs cellules diploïdes...

Le clonage permet aussi d'envisager la « résurrection » d'animaux disparus. Ainsi, plusieurs projets de clonage de mammoths ont été annoncés, à partir de cadavres retrouvés congelés. Plus proches de notre quotidien, des sociétés américaines proposent de cloner nos animaux de compagnie, chiens et chats, après la mort de l'original.

Dans le même ordre d'idée, une société américaine (Transgenics Pets) propose de commercialiser des chats transgéniques anallergiques, permettant à tous de chérir ces animaux (Prix de vente : 1000

\$, soit l'équivalent des chats à pedigree)... La transgénèse est probablement en effet l'application la plus intéressante du clonage, et ce, bien au delà de nos chers animaux de compagnie. Revenons à la brebis Dolly... Entre le prélèvement de la cellule donneuse et la fusion de son noyau avec un ovocyte énucléé se déroule une phase de culture cellulaire. On sait depuis fort longtemps modifier le patrimoine génétique de cellules ainsi placées en culture, avec une efficacité non négligeable. C'est là que réside l'intérêt majeur du clonage. En effet, six mois après la naissance de Dolly, est née Polly, une nouvelle brebis, clonée à la manière de Dolly, mais de surcroît transgénique (Schneike *et al.*, 1997). Le Roslin Institute, associé à la société privée PPL Therapeutics, a en effet profité de cette étape de culture cellulaire pour insérer un gène supplémentaire au génome de brebis. Ce gène est d'origine humaine et entraîne la production d'une protéine appelée facteur IX, absente chez les patients atteints d'une certaine forme d'hémophilie. Ce transgène, intégré dans les cellules en culture, est ensuite transféré dans l'ovocyte énucléé, lors de l'étape de fusion. La brebis Polly porte donc ce gène humain supplémentaire dans toutes ces cellules, et exprime la protéine correspondante dans son lait. Elle devient un véritable « réacteur » animal, et il suffit de purifier la protéine « médicament » humaine dans son lait pour espérer soigner, à faible coût, certaines formes d'hémophilies humaines.

Le 12/01/01, la presse annonçait la naissance du premier singe transgénique (Chan *et al.*, 2001), porteur du gène codant pour la protéine fluorescente de méduse GFP (*Green fluorescent protein*). On ne peut s'empêcher de voir là les prémices d'un clonage humain...

Lexique (source : <http://www.ac-versailles.fr/etabliss/herblay/GENETIQU/default.htm>)

Diploïde : On dit qu'une cellule est diploïde lorsqu'elle possède $2n$ chromosomes, c'est-à-dire que chaque chromosome a son homologue. Lorsque ce n'est pas le cas, la cellule est haploïde ou polyploïde (un ou plus de deux chromosomes semblables pour chaque type de chromosome).

Gamète : Le gamète est une cellule reproductrice de type haploïde qui a terminé la méiose et la différenciation cytoplasmique. Chez les animaux, les gamètes femelles sont les ovules et les gamètes mâles les spermatozoïdes.

Haploïde : On dit qu'une cellule est haploïde lorsqu'elle possède n chromosomes, c'est-à-dire que chaque chromosome est unique.

Méiose : La méiose est un processus se déroulant durant la gamétogenèse (spermatogenèse ou ovogenèse), c'est-à-dire durant l'élaboration des gamètes. Elle a pour but de donner des cellules haploïdes à partir de cellules diploïdes au cours de deux divisions. Mais en plus de ce rôle de division, la méiose a un rôle important dans le brassage génétique interchromosomique et intrachromosomique.

Ovocyte : Gamète femelle

Pronucleus : Noyau haploïde des gamètes

Spermatozoïde : Gamète mâle

Xénope : *Xenopus laevis*, le crapaud à griffe ou dactylère du cap, originaire d'Afrique australe est un amphibien anoure, utilisé comme modèle en biologie cellulaire et en biologie du développement

Bibliographie

Chan A. W. S., Chong K. Y., Martinovich C., Simerly C. and Schatten G., 2001. Transgenic Monkeys Produced by Retroviral Gene Transfer into Mature Oocytes, *Science*, 291 : 309-312.

Gurdon, J. B., 1962. The developmental capacity of nuclei taken from intestinal epithelium cells of feeding tadpoles. *Journal of Embryological Experimental Morphology*, 34 : 93-112.

Huxley A., 1932. *Le meilleur des mondes*

Marivaux P., 1730. *Le jeu de l'amour et du hasard*

Schneike, A.E., Kind, A.J., Ritchie, W.A., Mycock, K., Scott, A.R., Ritchie, M., Wilmut, I., Colman, A. and Campbell, K.H.S., 1997. Human factor IX transgenic sheep produced by transfer of nuclei from fetal fibroblasts. *Science*, 278 : 2130-2133.

Spemann H., 1938. *Embryonic Development and Induction*. New Haven, Yale University Press.

Wilmut, I., Schnieke, A.E., McWhir, J., Kind, A.J., and Campbell, K.H.S., 1997. Viable offspring derived from fetal and adult mammalian cells, *Nature*, 385 : 810-813.