

■■■ Une nouvelle méthode de transfert *in vivo* et *ex vivo* d'ADN par association à un adénovirus désarmé. L'adénovirus recombinant est un vecteur attractif pour le transfert *in vivo* d'ADN dans des indications de thérapie génique [1]. La limite actuelle de ce système est la quantité limitée d'ADN qu'il peut véhiculer (pas plus de 8 kb) et la possibilité que, *in vivo*, l'ADN recombinant défectueux soit complété en *trans* lors d'une infection par un adénovirus sauvage, aboutissant alors à l'émission de particules virales recombinées. D. Curiel (Chapel Hill, NC, USA) et M. Cotten (Vienne, Autriche) viennent de rapporter, à un récent congrès sur la thérapie génique organisé au NIH de Bethesda (MD, USA), une nouvelle méthode permettant de pallier ces deux insuffisances du système (rapporté dans [2]). Ces auteurs ont fait le raisonnement que le système adénoviral était d'un intérêt particulier du fait de l'efficacité avec laquelle il infectait une grande diversité de cellules. Normalement, l'adénovirus se retrouve dans des vésicules de type endosome qui sont dissoutes sous l'action des protéines de la capsid virale, probablement par l'intermédiaire d'une baisse du pH. Ce phénomène donne au virus un accès au reste de la cellule. La pénétration de l'ADN par des liposomes, ou par le biais de son association à d'autres molécules porteuses du même type, souffre du grave inconvénient que la voie normale d'entrée dans la cellule est celle de l'endocytose et des endosomes, puis des lysosomes où le matériel génétique peut être dégradé sans être transporté au noyau. Curiel et Cotten ont donc imaginé de greffer à l'extérieur de la particule virale une molécule de polylysine qui se comporte comme une protéine de liaison à l'ADN. Les particules adénovirales, ainsi modifiées, sont alors irradiées afin d'en détruire l'ADN endogène, puis mises en contact avec l'ADN que l'on veut transférer dans la cellule. La particule virale ainsi traitée peut se lier à son récepteur et pénétrer dans la cellule avec une très

grande efficacité, rompre la barrière vésiculaire, véhiculant ainsi l'ADN là où il peut être exprimé. Il n'y a pas, dans ce système, de limitation de la taille de l'ADN transféré, et aucun bio-hasard lié à l'éventuelle complémentation de l'adénovirus recombinant par le matériel génétique d'un virus sauvage. En d'autres termes, il s'agit d'une méthode idéale... s'il se confirme qu'elle fonctionne ! Pour étendre le propos, les multiples réunions qui se tiennent à l'heure actuelle aux États-Unis convergent toutes vers la notion que l'utilisation de vecteurs viraux dans des expériences de thérapie génique ne devrait constituer qu'une étape toute préliminaire dans le développement de cette nouvelle voie thérapeutique. L'avenir est, très probablement, à l'utilisation de vecteurs inertes combinant, en proportions variées, des protéines de liaison à l'ADN (polylysine et protéines HMG [*high mobility group*]) et un mécanisme de ciblage (asialoglycoprotéines ou liposomes branchés). La particule adénovirale en elle-même, en l'absence de génome viral fonctionnel, est une solution intermédiaire qui pourrait se révéler extrêmement prometteuse.

[1. Kahn A, Briand P. *médecine/sciences* 1991 ; 7 : 705-14.]

[2. Fox JL, *Biotechnology* 1992 ; 10 : 17.]

■■■ La mise en place des connexions synaptiques requiert un guidage précis du cône de croissance axonal vers sa cible (voir *m/s* n° 3, vol. 6, p. 303). Le chémo-tropisme (ou la chémo-affinité) est sans doute l'instrument essentiel de ce guidage lorsque l'axone atteint la proximité de sa cible. L'hypothèse la mieux admise, dérivée des expériences anciennes de Rita Levi-Montalcini et Victor Hamburger sur le NGF (*nerve growth factor*), est que ce chémo-tropisme dépend de la libération par les cellules cibles de substances attirantes qui, diffusant dans le tissu, y forment un gradient de concentration que suivent — ou évi-

tent — les axones en croissance. Quoique très attrayante, cette hypothèse est difficile à démontrer *in vivo*, dans un tissu où doivent s'entremêler des gradients multiples. Herwig Baier et Friedrich Bonhoeffer, du Max-Planck de Tübingen ont tenté de contourner le problème en recréant, *in vitro*, des gradients plus simples à partir de deux régions du tectum qui, chez l'embryon de poulet, attirent respectivement les axones provenant des zones nasale et temporale de la rétine [1]. Lorsqu'ils ont offert à des axones de ces deux zones rétiniennes des gradients créés par des mélanges divers de membranes tectales, ceux-ci ont réagi en fonction de leur attirance naturelle. On s'attendait à ce résultat, mais l'intérêt de l'expérience réside dans la démonstration que l'un des facteurs apparemment les mieux pris en compte par l'axone est non pas la concentration absolue des facteurs chémo-tropiques, mais la pente de leur gradient de concentration. Le calcul des pentes suffisantes pour induire un effet (repoussant) sur la pousse des axones d'origine temporale donne une fourchette très faible, puisqu'une pente de 1 % sur 25 μm n'a pas d'effet alors qu'une pente de 5 % sur 25 μm bloque totalement la croissance. Le comportement du cône de croissance à l'approche de sa cible dépendrait ainsi de gradients de diffusion dont l'extension maximale se situerait entre 2,5 (1 %) et 0,5 (5 %) mm, des chiffres un peu plus élevés mais d'un ordre comparable à ceux que l'on avait précédemment calculés en observant l'effet du dépôt de facteurs chémo-tropiques à distance d'axones en croissance. Cette étude permet de mieux comprendre l'orientation générale d'axones vers des territoires qui contiennent leurs cibles. Dans le tectum, toutefois, chaque neurone est la cible spécifique d'un très petit nombre d'axones rétiniens. Dans l'état actuel de la question, l'hypothèse des gradients est encore un peu grossière pour expliquer une association aussi sélective.

[1. Baier H, Bonhoeffer F. *Science* 1992 ; 255 : 472-5.]