

S'il te plaît, copie-moi un mouton...

Plus n'est besoin de présenter ce mouton nommé *Dolly* qui vient, avec grand bruit, d'ouvrir un nouveau débat sur les avancées de la recherche biologique. Près d'une semaine avant que ne soit accessible l'article de Wilmut *et al.* [1], les médias faisaient connaître la nouvelle, pour beaucoup stupéfiante : le clonage d'un mammifère à partir de noyaux de cellules somatiques devenait une réalité ! Et donc, d'emblée, un cauchemar puisque c'est l'application à l'homme qui, avant tout, a retenu l'attention des commentateurs. Pourtant cette nouvelle, car cela en est bien une, doit être replacée dans son contexte : c'est un événement scientifique dont il faut d'abord prendre la mesure avant d'engager un débat éthique nécessaire. Et ce débat doit prendre en compte, non seulement l'homme, mais surtout, peut-être, l'animal.

Les antécédents d'un clonage

Jusqu'à présent, on considérait impossible de reprogrammer complètement l'activité d'un noyau de cellule prélevé sur un animal adulte. En effet, si les travaux réalisés dans les années 1970 sur des amphibiens avaient démontré le pouvoir de régénération de noyaux de cellules embryonnaires lorsqu'on les introduisait dans le cytoplasme d'un ovocyte énucléé, ils avaient tous échoué avec les noyaux de cellules somatiques adultes. Contrairement à une idée largement répandue, l'utilisation de noyaux de kératinocytes [2] ou de cellules épithéliales en culture [3] n'avait permis d'obtenir, au mieux, et seulement de façon occasionnelle (moins de 5 % des embryons reconstitués), que des

larves d'apparence normale mais qui étaient mortes avant de se transformer en adultes fertiles. Seul un rapport [4] suggérait que le clonage à partir de noyaux adultes était possible (en l'occurrence, des noyaux prélevés sur des cellules de cristallin en culture), mais il n'y avait aucune preuve génétique pour affirmer que le seul animal obtenu était bien issu du noyau transplanté. Jusqu'à la naissance de *Dolly*, la même situation prévalait chez les mammifères, et seules les cellules isolées de jeunes embryons (avant le stade blastocyste) permettaient d'obtenir régulièrement des animaux viables.

La percée

L'équipe du *Roslin Institute* d'Édimbourg qui rapporte cette naissance avait récemment fait naître cinq agneaux femelles après transfert de noyaux de cellules ES isolées à partir de blastocystes et l'on pressentait déjà de nouvelles avancées (*m/s* n° 5, vol. 12, p. 640). Dans leur dernière expérience, les chercheurs écossais ont comparé l'aptitude au développement d'embryons issus de trois types de noyaux : des noyaux issus de cellules embryonnaires de type ES (semblables à ceux utilisés dans les expériences précédentes), des noyaux de cellules fœtales de type fibroblaste, isolées à 26 jours de gestation (qui dure 5 mois chez la brebis), et des cellules d'épithélium de glande mammaire prélevées sur une brebis âgée de six ans. Dans les trois cas, ils ont obtenu des agneaux : quatre avec les noyaux embryonnaires, trois avec les noyaux fœtaux, et un à partir des noyaux adultes. Il leur a fallu pour cela reconstituer en tout plus de 800 embryons (834),

dont près de 300 (277) avec les noyaux adultes. Le taux de blastocystes obtenu à partir des noyaux embryonnaires est trois fois plus élevé que celui qu'ils rapportaient il y a quelques mois (respectivement 35 % et 11 %). Cette amélioration très rapide de la technique semble liée au traitement qu'ils font subir aux cellules placées pendant cinq jours dans un état de quiescence par privation de sérum dans le milieu de culture. Les auteurs suggèrent que ce traitement drastique (on n'est pas loin de l'état de mort cellulaire) rend le noyau accessible aux facteurs de reprogrammation de l'ovocyte et permet un meilleur ajustement avec l'état interphasique du cytoplasme receveur. Ces formulations, bien vagues, traduisent le faible niveau de compréhension, aujourd'hui, de la nature des modifications qui affectent le noyau après transfert. Mais il va être possible maintenant de comparer les noyaux d'une grande variété de cellules différenciées, engagées dans un processus tumoral ou, au contraire, en état de sénescence, et de déterminer l'aptitude de régénération des noyaux en fonction des conditions de culture. On ne sait pas encore si les noyaux acquièrent à nouveau un état identique à celui du noyau zygotique, mais il ressort que le cytoplasme de l'ovocyte possède un important pouvoir de contrôle sur le noyau somatique, assurant la coordination nécessaire entre la réplication de l'ADN, la ségrégation des chromosomes et l'activation transcriptionnelle. Tout un éventail d'études fondamentales sur les relations noyau-cytoplasme, sur l'effet au cours du développement des modifications épigénétiques liées à la reprogrammation et/ou à la culture, et

donc sur l’empreinte parentale et sur les variations somaclonales* peut maintenant être envisagé, stimulant des recherches utilisant la souris, espèce pour laquelle la technique de transfert nucléaire s’est jusqu’à présent révélée moins efficace qu’avec les mammifères domestiques (mouton, lapin, vache).

Cloner des animaux : pourquoi ?

Dans leur article, les auteurs font état d’un taux de mortalité de plus de 60 %. Ce taux est dix fois plus élevé que celui observé dans les conditions naturelles, et reste très supérieur à celui obtenu après culture ou manipulation de l’embryon. Mais surtout, il se produit tardivement, entre le deuxième et le quatrième mois de gestation. Il y a, là encore, une limite évidente à l’application en routine de cette technique. Pour l’instant, ce sont surtout les possibilités offertes par les modifications génétiques des noyaux au cours de la période de culture qui devraient être développées et appliquées à la transgène chez les espèces domestiques. Les investisseurs ne s’y sont pas trompés et l’action de la compagnie *PPL Therapeutics*, société de biotechnologie à capitaux-risques qui contribue activement au financement de l’équipe du Dr Wilmut depuis plusieurs années, a fait un bond de 16 %. Cette société produit des molécules d’intérêt pharmaceutique dans le lait de brebis ou de vache et le clonage va lui permettre de multiplier les animaux transgéniques déjà nés. Elle va sans doute aussi rapidement tenter d’étendre son activité à la production de nouveaux modèles animaux de maladies humaines par transgène ciblée dans les noyaux des cellules en culture. En revanche, l’utilisation en sélection animale impliquera comme préalable, non seulement une amélioration des méthodes, mais aussi une utilisation soigneusement raisonnée car plusieurs voies nouvelles peuvent être suivies. La multiplication à grande échelle dans une race don-

née d’un animal sélectionné pour ses capacités de production de lait ou de viande est souvent considérée comme l’application principale du clonage. Sans doute à tort car, outre la nécessité d’une maîtrise parfaite de la technique, la diffusion trop large d’un seul génotype peut rapidement contribuer à appauvrir la diversité génétique de la race et compromettre le progrès à attendre de la sélection après reproduction sexuée. La réplication limitée d’animaux de phénotype exceptionnel (5 à 10 copies par animal suffisent) peut, en revanche, contribuer à connaître beaucoup plus précisément et à moindre coût leurs aptitudes génétiques. Cette voie qui permet de réduire (par rapport aux programmes de sélection actuels) le nombre d’animaux à contrôler, bénéficierait largement aux races de petits effectifs dont la sélection est aujourd’hui peu efficace. Elle permettrait, en outre, en répartissant les clones dans des milieux différents de retenir comme critères de sélection la résistance à des maladies ou l’adaptation à des modes d’élevage plus extensifs, critères peu pris en compte jusqu’alors car, à hérédité faible. Encore faut-il, auparavant, s’assurer de l’innocuité de la technique. On sait aujourd’hui que le clonage à partir de noyaux embryonnaires non cultivés aboutit, dans 3 % à 5 % des cas, à la naissance de veaux de santé fragile [5], et rien ne permet de dire que ce taux restera faible avec les clones issus de noyaux de cellules adultes cultivées.

Clonage animal et éthique

Le principe de précaution que les organisations d’éleveurs, au moins en Europe, souhaitent respecter doit maintenant prévaloir, non seulement pour les animaux d’intérêt agronomique, mais aussi pour les animaux de compagnie. L’actualité récente a clairement montré que les relations que l’homme entretient avec les populations animales évoluent rapidement. Discerner dans l’avancée de nos connaissances sur le vivant ce qui est acceptable de ce qui ne l’est pas pour des applications à nos « cousins les bêtes » est une démarche éthique

spécifique, nécessaire mais encore neuve. Celle qui concerne l’homme est, en revanche, maintenant solidement établie dans de nombreux pays et surtout en Europe ; depuis plusieurs années, en France, le clonage humain qui nie le respect de la personne en tant qu’individu unique a toujours été unanimement condamné et fait l’objet d’un clair énoncé d’interdit. La naissance de *Dolly* doit donc être l’occasion d’un renouveau des débats sur la place de l’animal dans notre société. Il y a sans doute urgence car, bientôt peut-être, même l’aviateur en panne dans le désert qui entendra une petite voix lui demander de lui dessiner un mouton ne saura plus s’il doit lui donner la réplique !

1. Wilmut I, Schunleke E, McWhir J, Kind AJ, Campbell KHS. Viable offspring derived from fetal and adult mammalian cells. *Nature* 1997; 385 : 810-3.
2. Gurdon JB, Laskey RA, Reeves OR. The developmental capacity of nuclei transplanted from keratinized cells of adult frogs. *J Embryol Exp Morphol* 1975; 34: 93-112.
3. Kobel HR, Brun RB, Fischberg M. Nuclear transplantation with melanophores, ciliated epidermal cells, and the established cell line A-8 in *Xenopus laevis*. *J Embryol Exp Morphol* 1973; 29: 539-47.
4. Muggleton-Harris AL, Pezzella K. The ability of lens cell nucleus to promote complete embryonic development through to metamorphosis and its applications to ophthalmic gerontology. *Exp Gerontol* 1972; 7: 427-31.
5. Kruijff TAM, den Daas JHG. *In vitro* produced and cloned embryos: effects on pregnancy, parturition and offspring. *Theriogenology* 1977; 47: 43-52.

Jean-Paul Renard

INRA, Unité de biologie du développement, 78352 Jouy-en-Josas, France.

* Variations phénotypiques observées chez les plantes régénérées à partir de clones de cellules cultivées.