

### De nouvelles orientations en biologie moléculaire \*

par Ian C. Caldwell

(The Wellcome Research Laboratories)

*Dans un article précédent (L'Actualité chimique, mai 1975), l'auteur s'est efforcé de faire une mise au point sur l'état actuel de nos connaissances biochimiques en biologie moléculaire. L'objet de ce second article est de montrer comment nos connaissances en biologie moléculaire sont appliquées dans d'autres domaines de la recherche et d'indiquer quelle orientation celle-ci pourrait prendre à l'avenir.*

Le processus de différenciation, par lequel les cellules se modifient ou arrivent à maturité pour donner des cellules d'un caractère tout à fait différent aux fonctions et à la structure spécialisées, est un des domaines de recherche de la biologie moléculaire les plus intéressants à l'heure actuelle. L'exemple de différenciation qui vient immédiatement à l'esprit est sans aucun doute celui de l'embryon. Dans ce cas, une seule cellule, l'ovule fertilisé ou zygote, donne naissance aux nombreuses cellules diversifiées de l'organisme adulte. La différenciation peut conduire à la formation de cellules de type stable capables de se reproduire elles-mêmes (comme c'est le cas pour les cellules du foie et des reins) aussi bien qu'à celle de cellules qui peuvent se diviser et se reproduire elles-mêmes ou encore continuer à se différencier (par exemple, les cellules souches qui donnent naissance aux diverses cellules du sang) et enfin à la formation de cellules extrêmement spécialisées comme les cellules nerveuses et les globules rouges du sang qui s'acquittent de leur fonction mais qui ne se reproduisent pas.

Il est bien évident que l'information génétique requise pour le processus de développement doit être présente dans la première cellule, même si l'on considère que l'environnement et les interactions entre cellules peuvent jouer un rôle certain à différents stades de la différenciation. Les phénomènes qui amorcent, entretiennent, arrêtent et régularisent la différenciation doivent être intimement associés aux processus qui contrôlent la synthèse et les fonctions des acides nucléiques. La précision avec laquelle se déroule la différenciation indique l'extrême complexité des mécanismes de régulation et cette complexité rend la recherche dans ce domaine à la fois passionnante et décevante. Depuis quelques années, les biologistes s'intéressent de plus en plus à l'étude de la base moléculaire de la différenciation. En même temps, la séquence prédéterminée des phénomènes qui se déroulent dans les différents systèmes de cellules fait de ces systèmes un domaine idéal de recherche fondamentale en biologie moléculaire. Le fait que les biologistes et les biochimistes abordent le problème sous différents aspects, devrait permettre de faire avancer rapidement nos connaissances d'ici quelques années.

Il semble presque inévitable que pendant quelque temps encore la recherche doive s'appuyer sur des systèmes relativement « simples », qu'elle étudie par exemple : la sporulation chez les bactéries, au cours de laquelle les cellules passent des formes de croissance actives au stade des spores, le processus de sporulation plus complexe qu'on observe dans la moisissure de la vase, le développement embryonnaire d'organismes multicellulaires simples tels que l'oursin et les amphibiens, et des systèmes de mammifères isolés dans des cultures de cellules. On finira certainement par acquiescer une connaissance approfondie des systèmes plus complexes, comme le développement des mammifères, depuis le zygote jusqu'à l'animal adulte, mais dans un avenir encore relativement lointain.

\* *Spectrum* 123.

De nombreuses substances « étrangères » à l'organisme (produits chimiques, bactéries, virus, cellules d'autres sources, etc.) sont capables de produire une réaction immunitaire dans les organismes complexes. Lorsque l'organisme est exposé à ces substances, que l'on appelle antigènes, le système immunitaire réagit par la prolifération de certains globules blancs spécifiques du sang, les lymphocytes qui sont programmés pour la production d'anticorps spécifiques correspondant à l'antigène considéré. Ces anticorps peuvent être liés à la surface des lymphocytes spécifiques ou faire partie de cette surface, produisant une immunité qui ne peut être transférée que par des cellules (immunité dite d'hypersensibilité retardée). Les anticorps peuvent aussi être sécrétés par les cellules sous forme de protéines complexes, appelées immunoglobulines. Ils confèrent alors une réaction immunitaire de type humoral. Les réactions spécifiques antigène-anticorps qui suivent aboutissent à la neutralisation de l'antigène et c'est là un moyen de protection de l'organisme contre l'invasion d'une substance étrangère. Pendant des années, on a effectué des tests de transformation des lymphocytes au niveau moléculaire pour déterminer si un organe peut réagir à un antigène donné. Lorsqu'on place des lymphocytes dans un milieu de culture cellulaire, il se produit très peu de division ou prolifération cellulaire. Si cependant on ajoute des antigènes (que dans ce contexte, il serait peut-être préférable de décrire sous l'appellation de mitogènes, ou agents inducteurs de mitose) les lymphocytes qui sont capables de réagir à un antigène particulier commencent à proliférer. La quantité d'un précurseur radio-actif, tel que la thymidine marquée au tritium, dans le milieu de culture qui est incorporé dans l'ADN est prise comme mesure de la synthèse de l'ADN, qui indique l'importance de la prolifération des cellules. Celle-ci à son tour est une mesure de la réaction immunitaire.

Depuis quelques années on a pris conscience des rapports étroits existant entre l'immunologie et la biologie moléculaire. Comme la réponse immunitaire est un phénomène qui produit éventuellement des protéines spécifiques, il n'est pas surprenant que l'on applique maintenant les concepts de la biologie moléculaire pour essayer d'expliquer comment le système immunitaire peut synthétiser des anticorps spécifiques contre les milliers d'antigènes auxquels l'organisme est exposé. Pendant des années, on a pensé que l'antigène agissait comme matrice pour la synthèse de l'anticorps correspondant. Cette hypothèse ne pouvait toutefois expliquer de nombreux phénomènes observés par la suite. Actuellement on accepte généralement l'hypothèse de la sélection clonale : l'antigène agit en sélectionnant le clone (petit nombre de cellules identiques) qui est déjà génétiquement programmé pour synthétiser des anticorps spécifiques correspondant à l'antigène considéré.

Si l'on s'en tient à l'hypothèse de la sélection clonale, on peut en déduire deux principales théories. La théorie de la « lignée germinale » veut que toute l'information requise pour la production de tous les anticorps possibles soit présente dans l'ovule fertilisé original d'où provient en fin de compte l'organisme adulte. La théorie de la « mutation somatique », moins en faveur actuellement, avance que bien que l'organisme reçoive une somme importante d'information codée par le mécanisme de l'hérédité, la capacité totale de production d'anticorps est le résultat de la mutation continue des lymphocytes au cours de la vie de l'organisme, avec un accroissement résultant de la gamme d'anticorps possibles.

La possibilité d'un organisme de synthétiser tant d'anticorps spécifiques pour réagir contre des antigènes que l'organisme n'a encore jamais rencontrés n'est pas un concept aussi étonnant qu'on pourrait le penser au premier abord. Tout d'abord, les organismes adultes contiennent plusieurs millions de lymphocytes et il suffit qu'un très petit nombre d'entre eux soient programmés pour produire un anticorps spécifique. Ensuite, un anticorps ne reflète pas nécessairement toute la structure chimique de l'antigène. Seule une partie de la molécule d'immunoglobuline (région « variante ») doit être capable de réagir avec certaines régions actives de la molécule antigénique correspondante (déterminant antigénique ou épitope). Troisièmement il n'est pas nécessaire qu'il y ait une correspondance exacte entre les régions réactives de l'antigène et de l'anticorps. Il existe un certain degré de flexibilité si bien qu'une molécule d'anticorps donné peut en fait réagir avec un certain nombre d'antigènes similaires ou ayant d'étroits rapports entre eux. La théorie de la sélection clonale est ainsi faisable. De plus, elle a pu fournir des explications rationnelles et logiques d'un certain nombre d'observations faites en laboratoire et en clinique.

On intensifie les recherches pour examiner ces théories et élucider les mécanismes de base permettant d'expliquer la production d'anticorps et sa régulation. Les rapports entre immunologie et biologie moléculaire augmentent rapidement et il semble que ce soit là un des domaines les plus passionnants et les plus fertiles de la recherche biologique pour les années à venir.

#### La recherche de substances nouvelles

Il existe aussi d'étroits rapports et depuis de nombreuses années entre la biologie moléculaire et la recherche de substances nouvelles. D'une part, de nombreuses substances (certaines ayant une valeur clinique en tant que médicaments et beaucoup d'autres n'ayant pas pour différentes raisons d'application médicale utile), inhibent ou

modifient certains aspects de la synthèse et de la fonction des acides nucléiques et se sont révélées des outils très utiles en biologie moléculaire.

L'emploi de ces substances a permis de bloquer sélectivement certaines voies à différents stades, pour aboutir à la dissociation de nombreux phénomènes en biologie moléculaire et à fournir au moins des systèmes d'essais en partie simplifiés. Par exemple, l'antinomycline D lie les résidus de guanine dans l'ADN et empêche la transcription. La puromycine intervient dans la synthèse des protéines en libérant prématurément des ribosomes des chaînes protéiques incomplètes. Les sulfamides empêchent, dans les systèmes bactériens tout au moins, la synthèse de l'acide folique et de ses dérivés, qui sont d'importants cofacteurs dans la biosynthèse des acides nucléiques, tandis que des agents comme le méthotrexate, la pyriméthamine et la triméthoprime contraignent la fonction de ces cofacteurs; et le nucléoside cordycépine, qui est un antibiotique, est incorporé dans les chaînes d'ADN à la place d'un constituant normal, laissant un groupe d'extrémité sur la chaîne auquel on ne peut rien ajouter, ce qui termine celle-ci.

Ces agents, et bien d'autres, ont été des outils indispensables pour atteindre le niveau actuel des connaissances en biologie moléculaire. Il est certain que l'on découvrira d'autres agents à l'avenir, qui à leur tour, faciliteront les recherches nécessaires à l'acquisition de nouvelles données.

D'autre part, nos connaissances en biologie moléculaire nous ont permis de mieux comprendre les mécanismes biochimiques possibles à l'origine des effets biologiques observés de ces substances qui ont fait l'objet d'observations. C'est notamment le cas de substances que l'on pourrait qualifier d'agents d'antiprolifération, substances qui inhibent la croissance et la multiplication des cellules. C'est le cas par exemple des médicaments utilisés pour combattre les infections causées par les virus, les bactéries et les protozoaires et pour attaquer les cellules cancéreuses. (Il convient peut-être de faire remarquer que bien que dans de nombreux cas on possède de fortes preuves que l'action d'un médicament est due à un effet biochimique donné, il arrive cependant parfois de pouvoir établir un rapport de cause à effet entre observations biochimiques et biologiques.) Comme nos connaissances des différents types de cellules et des divers mécanismes biochimiques d'action des médicaments augmentent constamment, il se peut qu'il soit bientôt possible de formuler un médicament « sur mesure » répondant à un besoin spécifique.

Les rapports entre la biologie moléculaire et la pharmacologie pourraient bien se révéler les plus prometteurs dans le domaine de l'application de la chimiothérapie au traitement du cancer. On estime pouvoir sauver chaque année des dizaines de milliers d'existences grâce aux progrès accomplis dans le traitement de la leucémie et de cancers similaires au moyen de produits chimiques et ces progrès sont dus en partie à nos connaissances plus approfondies en biologie moléculaire. On a obtenu en particulier un succès considérable avec la chimiothérapie de combinaison, qui consiste à administrer plusieurs produits chimiques à la suite, ou ensemble. C'est ainsi qu'au cours d'un traitement on peut administrer jusqu'à 8 agents différents.

Pour choisir des combinaisons donnant de bons résultats, on se base sur le fait que les médicaments doivent avoir des actions toxiques et des mécanismes thérapeutiques différents. Par conséquent, lorsqu'un médicament est administré à la dose maximale leurs effets thérapeutiques devraient être additifs, mais il ne devrait pas en être ainsi pour leurs effets toxiques, la combinaison permet alors de rendre le traitement beaucoup plus efficace que si l'on n'avait employé qu'un des médicaments en question. Il est probable que la vaste somme de recherches effectuées en ce moment permettra de trouver d'ici quelques années des combinaisons encore plus efficaces et moins toxiques.

#### Mutagenèse et carcinogénèse

Depuis quelques années, on s'intéresse beaucoup aux agents qui peuvent provoquer des modifications génétiques dans les cellules ou les organismes, du fait que l'on rencontre souvent de tels agents dans la pollution de l'environnement, le régime alimentaire, etc. (Les termes mutagenèse et carcinogénèse sont souvent employés l'un pour l'autre d'une manière qui prête à confusion. Il pourrait être raisonnable de considérer que la carcinogénèse, transformation d'une cellule normale en une cellule maligne, entraîne inévitablement la mutagenèse, ou induction d'une modification génétique, alors que la mutagenèse peut aboutir ou ne pas aboutir à la carcinogénèse.) Il y a de nombreux types de substances qui peuvent provoquer des modifications génétiques et il n'est pas encore possible actuellement de prédire les effets d'un produit donné. Par exemple, deux produits chimiques complètement différents peuvent produire des tumeurs similaires au cours d'expériences effectuées sur des animaux, alors que deux produits chimiques presque identiques peuvent être l'un d'entre eux un agent carcinogène en puissance et l'autre pratiquement inoffensif.

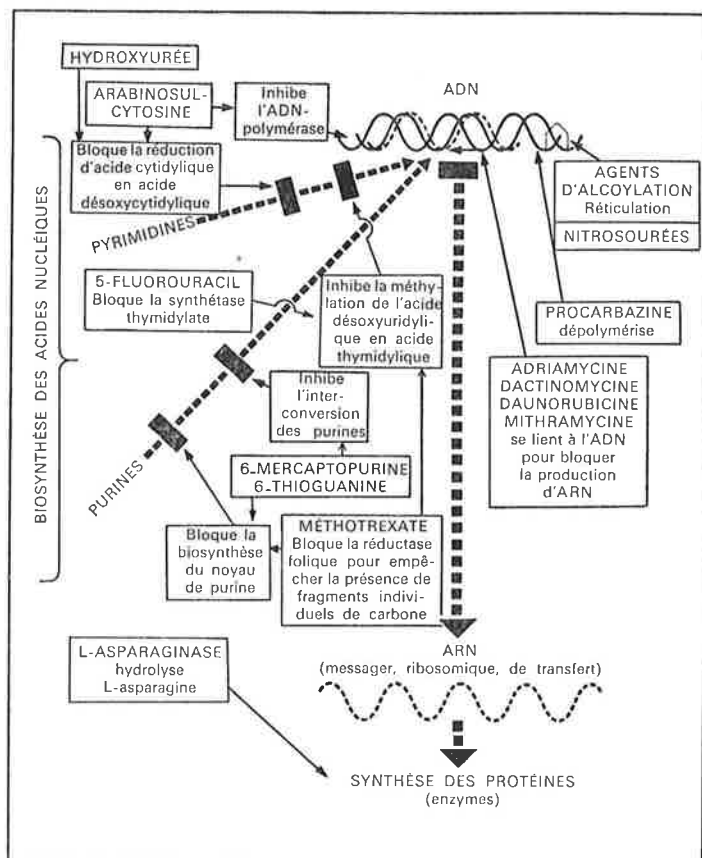
On pense que vraisemblablement de tels agents agissent sur l'ADN, acide nucléique qui contient les informations génétiques d'un individu, bien qu'il soit aussi possible qu'ils agissent sur d'autres éléments de la cellule. Si les molécules d'ADN sont modifiées, il semble très possible que les codons altérés donnent naissance à des modifications de l'ARN et de la synthèse des protéines. Par exemple, la réaction pourrait donner naissance à une mutation *faux-sens* entraînant le changement d'un acide aminé différent ainsi une protéine modifiée,

ou à une mutation *non-sens* produisant un codon qui ne correspond à aucun acide aminé et empêche ainsi la synthèse de la protéine complète. D'autres modifications pourraient se produire par modifications de phase dans la lecture, ce qui conduirait à une mauvaise interprétation de l'information codée pouvant affecter les parties de l'ADN qui contrôlent plutôt qu'elles ne codent les fonctions, ou encore à lire et à exprimer des parties de l'information génétique qui normalement seraient masquées ou inactives.

Le rôle que jouent peut-être les virus dans la carcinogenèse est encore un autre domaine de la recherche active. Bien que l'on ait observé que certains cancers, comme la leucémie du poulet, soient dus à un virus et qu'un virus, le polyome, puisse provoquer des tumeurs chez les animaux, on n'a aucune preuve des origines virales des tumeurs chez l'homme. Il est tout à fait possible d'imaginer qu'un ADN porteur d'un virus cancérigène puisse être incorporé dans le matériel génétique de la cellule d'un hôte et être utilisé ou exprimé spontanément ou comme résultat d'un « adjuvant » comme un agent chimique ou un changement dans le micro-environnement de la cellule, conduisant à la transformation maligne de la cellule. Une hypothèse troublante est que de nombreuses cellules sont peut-être malignes en puissance et que des transformations cancéreuses s'effectuent en fait assez fréquemment. Mais le développement d'une tumeur en puissance n'a lieu que lorsque le système immunitaire de l'hôte ne peut pas lutter contre les cellules devenues cancérogènes.

On étudie activement dans de nombreux laboratoires du monde comment des produits chimiques, des virus et d'autres organismes peuvent être à l'origine de mutations et comment l'organisme intervient (ou n'intervient pas) pour lutter contre de telles modifications. Il est impossible de prédire si l'on arrivera à mettre au point une théorie unifiée permettant d'expliquer les origines de tous les types de cancers. La réponse ne sera possible à formuler qu'après de nouvelles constatations et mises au point.

Il ne nous a pas été possible de décrire un sujet particulier en profondeur et en détail. Nous aurions pu également aborder encore bien d'autres sujets, par exemple les manipulations génétiques dont on parle beaucoup depuis quelques années, ou le mécanisme de la mémoire, que certains attribuent aux acides nucléiques (et en particulier à l'ARN). L'auteur espère toutefois que ces deux articles ont donné une idée du rôle joué actuellement par la biologie moléculaire considérée par elle-même et par rapport à d'autres domaines de la recherche — et des orientations possibles à l'avenir.



Quelques sites biochimiques où il a été montré que des agents anticancéreux s'opposaient à la synthèse et à la fonction des acides nucléiques.