

CARTOGRAPHIE DU GÉNOME HUMAIN

Jean-Louis MANDEL*

L'Amérique ne sera pas seule à proposer l'étude du génome humain. L'Europe présente un projet de cartographie : localiser et identifier les gènes, pour comprendre, diagnostiquer et prévenir les maladies à composante héréditaire.

En réponse au vigoureux effort américain d'étude du génome humain, la CEE a prévu un programme qui doit permettre une stimulation de la recherche européenne dans ce domaine. La proposition initiale, émanant de la Commission de la CEE (juillet 1988), a été affinée par un groupe d'experts des divers pays membres, sous l'égide du Pr P. Pearson (Leyde), et le programme devrait être mis en œuvre début 1990, lorsque les différents niveaux de contrôle et de décision auront été franchis. Une partie du retard est due aux critiques du Parlement européen de Strasbourg (provenant notamment des Verts allemands) et portant sur les problèmes éthiques (eugénisme, utilisation des résultats de tests génétiques par les employeurs, les assurances, etc.) qui pourraient être liés à certaines applications des recherches sur le génome humain. Il faut souligner que ce programme avait été proposé sous le titre initial : « Médecine prédictive : analyse du génome humain », faisant apparaître, notamment, des retombées bénéfiques potentielles pour la compréhension, le diagnostic, et également la prévention des maladies génétiques et des maladies communes ayant une composante génétique (diabète, maladies cardio-vasculaires, psychose maniaco-dépressive).

C'est évidemment ce dernier point de prévention qui a soulevé des inquiétudes, que le contenu réel du programme, très fondamental, ne justifiait guère.

Avant de résumer le programme proposé, il faut souligner qu'à l'instar des projets américains, il n'est nullement question de commencer dès maintenant à séquencer le génome humain, mais seulement de réaliser la cartographie génétique et physique détaillée, et à améliorer la technologie de la cartographie et du séquençage, et celle de l'analyse de

séquences. Cette cartographie constitue une étape essentielle pour identifier et isoler de manière efficace les gènes correspondant aux très nombreuses maladies génétiques (plus de 2 000) répertoriées chez l'homme. Les développements méthodologiques seront évidemment applicables à tous les autres génomes, notamment à ceux des micro-organismes présentant un intérêt dans le secteur des biotechnologies ou dans le domaine de l'agro-alimentaire, ainsi qu'à ceux de la drosophile, de la souris, etc.

Le programme présenté est un programme de recherche fondamentale sur le génome visant à établir des ressources communes aux laboratoires européens et à promouvoir et améliorer des méthodologies de pointe dans ce domaine. Les aspects des applications à la santé suggérés par le titre initial du programme seront certainement des retombées de celui-ci, mais ne seront pas directement abordés.

Le projet comporte six aspects principaux : affinement de la carte génétique humaine, cartographie physique et bibliothèques de clones ordonnés, méthodologies « avancées » en génétique, bases de données et analyse de données, bourses de formation, aspects éthiques, sociaux et légaux des recherches sur le génome. Les divers points seront brièvement décrits ci-dessous. N'ayant pas encore été adopté officiellement, ce programme est toutefois susceptible d'être modifié.

La cartographie génétique

La cartographie génétique (analyse de la ségrégation de marqueurs génétiques dans des familles) comporte deux aspects : la localisation des gènes de maladies héréditaires (2 000 sont répertoriées) et l'établissement d'une carte générale du génome en utilisant des marqueurs polymorphiques détectables au niveau de l'ADN (polymorphismes de fragments de restriction ou RFLP, ou nouveaux types de polymorphismes détectables en utilisant la réaction



Jean-Louis Mandel.

d'amplification de l'ADN). Le second aspect est en fait essentiel pour la localisation efficace des gènes de maladies rares ou pour le problème très complexe de la localisation de gènes impliqués comme facteurs de risque pour des maladies communes (maladies cardio-vasculaires, psychiatriques, diabète, asthme, etc.).

Dans ce domaine, la coopération internationale est particulièrement fructueuse et active, grâce à un organisme privé français, le Centre d'étude du polymorphisme humain (CEPH) créé en 1983 par le Pr Jean Dausset. Le CEPH distribue à cinquante-huit laboratoires « collaborateurs » l'ADN des membres de quarante grandes familles (517 individus) en échange de l'engagement de ces laboratoires à l'élaboration d'une base de données commune en fournissant les résultats du typage détaillé de chaque individu pour chaque marqueur génétique testé. Cela permet d'intégrer les résultats des divers laboratoires dans une même carte génétique, ce qui serait impossible si les familles analysées par chaque laboratoire n'étaient pas les mêmes. Le CEPH et la coopération internationale qu'il anime sont donc devenus incontournables pour l'établissement d'une carte génétique dense (carte à un centimorgan, but déclaré des Américains).

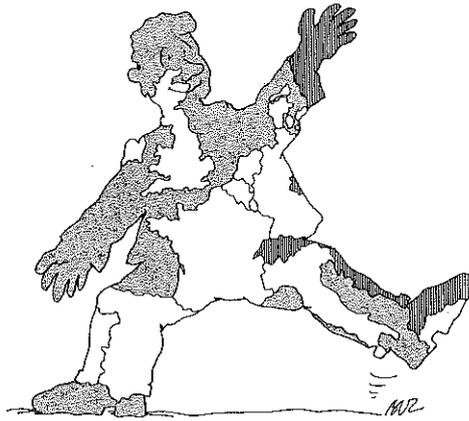
Toutefois, dans le domaine de la réalisation même de cette carte génétique, l'Europe avait pris un retard certain. En effet, le typage de RFLP sur les familles du CEPH nécessite l'analyse de plus de 500 ADN par la technique assez lourde de *Southern blot* (digestion, électrophorèse, transfert...) multipliée par le nombre de marqueurs analysés. Ce travail répétitif est jugé intellectuellement peu stimulant. En fait, la majorité de la carte génétique actuelle a été produite par deux laboratoires américains à l'organisation quasi « industrielle » permettant une optimisation de l'analyse, l'un de ces laboratoires étant celui de la société privée « Collaborative Research ».

* Institut de chimie biologique, faculté de médecine, 11, rue Humann, 67085 Strasbourg Cedex.

Pour permettre à l'Europe de jouer un rôle important dans l'établissement d'une carte dense, le projet de la CEE prévoit l'établissement de deux centres de ressources communes : l'un pour la préparation des *blots* (membranes), ou tout au moins des ADN déjà digérés par des enzymes de restriction, l'autre pour la caractérisation et la préparation de sondes détectant des polymorphismes. Cette centralisation doit permettre une bien meilleure efficacité et fiabilité grâce aux possibilités de robotisation pour la digestion des ADN et la préparation des membranes. Membranes et sondes seraient distribuées à une vingtaine de laboratoires européens « collaborateurs » qui s'engageraient à typer chacun cent marqueurs sur l'ensemble des familles, pour la durée du programme (trois ans). Le nombre des familles sera porté à soixante, ce qui est nécessaire pour l'établissement d'une carte dense ; 2 000 marqueurs pourraient être ainsi localisés, ce qui serait équivalent à l'effort américain en la matière. Un réseau informatique est prévu, permettant l'intégration et l'analyse rapide des données générées.

La cartographie physique

La cartographie physique consiste à ordonner des fragments clonés d'ADN les uns par rapport aux autres, et comporte différents niveaux de complexité : cartographie régionale (précision, environ 10 000 kb) par hybridation *in situ* sur chromosome métaphasique, électrophorèse en champ pulsé permettant de générer des cartes de restriction pour des régions de 100 à 10 000 kb. Le but ultime est d'avoir l'ensemble du génome sous forme de clones isolés dont l'ordre relatif est connu. Cela permettrait d'éviter, dans les recherches sur les maladies génétiques, les longues et fastidieuses marches (ou sauts) sur le génome. On peut rappeler qu'il a fallu quatre ans à deux puissantes équipes pour cloner 500 kb dans la région du gène de la mucoviscidose et identifier ce dernier. Une bibliothèque de clones chevauchants pour le génome permettant le clonage par « téléphone » de n'importe quelle région proche du gène d'une maladie. Enfin l'établissement de telles bibliothèques de clones ordonnés est nécessaire pour le séquençage proprement dit. Plusieurs approches méthodologiques sont possibles tant pour le clonage (dans des vecteurs cosmides ou sous forme de



chromosomes artificiels dans la levure) que pour l'analyse permettant d'ordonner ces clones (techniques de *finger printing*). L'un des buts principaux sera d'établir un ou plusieurs centres de ressources pour la conservation et la distribution des clones aux laboratoires intéressés qui contribueraient à leur caractérisation et à la constitution de bases de données communes. La méthodologie récente, très puissante, mais longue et délicate à mettre en œuvre, du clonage dans les chromosomes artificiels de levure (YAC) paraît se prêter particulièrement bien à une telle centralisation. La constitution de bibliothèques d'ADNc « normalisées » (bibliothèques contenant les copies ADN des séquences d'ARN messagers exprimés dans un tissu donné) sera également proposée, servant de base à l'identification et au séquençage de nouveaux gènes.

Les bases de données

Le projet du génome humain comporte l'acquisition de données diverses et complexes (caractérisation structurale et fonctionnelle de segments d'ADN clonés, cartographie physique à divers niveaux, séquences, etc.). Il paraît capital de concevoir et d'établir une base de données intégrée pour le génome humain, et d'éviter une prolifération de bases de données fragmentaires et incompatibles. Dans ce cadre, il faudra constituer des bases de données spécialisées (pour la cartographie physique, par exemple). Il faudra développer des logiciels d'accès à de telles bases et des logiciels d'analyse de données, ainsi qu'une infrastructure de communication informatique.

Il sera d'autre part très important de coordonner dès le départ les efforts européens à ceux qui ont déjà été entrepris aux États-Unis.

Les méthodologies avancées

Cette partie du programme proposé est la plus ouverte puisqu'elle est dirigée vers le déve-

loppement et l'amélioration des techniques de cartographie génétique et physique du génome, de détermination et d'analyse des séquences d'ADN, de détection de mutations, etc.

Les bourses de formation

Afin de promouvoir l'utilisation de la génétique moléculaire dans les pays de la CEE où celle-ci est peu développée, la création de bourses de formation pour des jeunes chercheurs sera proposée.

Aspects éthiques sociaux et légaux

Bien que le programme en lui-même ne soulève aucun problème éthique ou social, il n'en est pas de même des applications possibles des connaissances sur le génome humain : prévention des maladies héréditaires monogéniques, utilisation des connaissances sur les facteurs génétiques de risque pour les maladies communes, thérapie génique (la thérapie au niveau des cellules germinales est totalement exclue du programme) etc. Le projet prévoit de favoriser les études et les discussions publiques de ces différents problèmes. D'une façon plus générale, il devrait permettre une meilleure information du grand public sur les buts et retombées possibles des études sur le génome.

Budget

Il faut, pour terminer, évoquer l'aspect budgétaire du programme : le montant prévu est de 15 millions d'ECU (environ 100 millions de francs) pour une période de deux ans et demi à trois ans. Cela est relativement modeste, comparé aux programmes américains : pour la seule année 1990 le budget Génome humain du NIH sera probablement de 60 millions de dollars, celui du Department of Energy d'environ 30 millions, et celui du Howard Hughes Institute (particulièrement actif pour la carte génétique et les bases de données) peut être estimé également à 20-30 millions de dollars. Le NIH prévoit un doublement de son effort dans un délai rapproché. Le budget européen ne pourra avoir un impact que s'il génère un effet d'entraînement sur les programmes nationaux (le programme anglais paraissant le plus actif pour l'instant) et permet d'améliorer l'organisation et la coordination des efforts des laboratoires, d'où l'insistance sur la constitution de centres de ressources.