

La transgénèse et ses applications médicales

Louis-Marie Houdebine *

Unité de biologie du développement et biotechnologie, institut national de la recherche agronomique, 78352 Jouy-en-Josas cedex, France

Résumé

La transgénèse est l'opération qui permet d'introduire une information génétique étrangère de manière stable dans le génome d'un organisme pluricellulaire. Cet ensemble de techniques mises en œuvre pour la première fois en 1980 chez les animaux et en 1983 chez les plantes a de multiples applications dont beaucoup ont un rapport direct ou indirect avec la médecine. La transgénèse est devenue un des outils essentiels pour définir le rôle des gènes dans le contrôle des fonctions biologiques. Cette approche fondamentale s'accompagne logiquement de l'obtention de lignées d'animaux transgéniques permettant l'étude des maladies humaines et la mise au point de nouveaux médicaments. Le lait des animaux transgéniques, ainsi que les feuilles et les graines de certaines plantes transgéniques vont prochainement devenir une source essentielle de protéines ayant des effets thérapeutiques essentiels. Des porcs modifiés génétiquement pour ne plus subir les mécanismes de rejets pourraient un jour être la source d'organes et de cellules pour des patients. Les applications agronomiques de la transgénèse qui ne font que commencer vont contribuer très significativement à apporter aux communautés humaines des aliments en quantité suffisante et ayant des qualités nutritives améliorées par des méthodes plus douces et moins polluantes. © 2002 Éditions scientifiques et médicales Elsevier SAS

aliments / modèles animaux / protéines pharmaceutiques / transgénèse

Summary – Transgenesis and medical applications.

Transgenesis consists of introducing stably a foreign genetic information into the genome of a multicellular organism. These techniques used for the first time in 1980 for the animals and 1983 for plants have multiple applications of which many are directly or not related to medicine. Transgenesis has become one of the essential tools to study the role of genes in the control of biological functions. This approach is logically accompanied by the generation of transgenic animal lines for the study of human diseases and the test of new pharmaceuticals. Milk from transgenic animals as well as leaves and seeds from transgenic plants are ready to become an essential source of proteins having essential therapeutical effects. Genetically modified pigs are expected to be resistant to rejection mechanisms to become the source of organs or cells for patients. The application of transgenesis in agriculture and breeding is still in infancy. It may contribute quite significantly to provide human communities with food in sufficient amount, having improved nutritional properties and produced using a milder and less polluting methods. © 2002 Éditions scientifiques et médicales Elsevier SAS

animal models / nutraceuticals / pharmaceutical proteins / transgenesis

1. INTRODUCTION

La découverte de la structure de l'ADN et du code génétique a permis de faire un lien précis entre la notion abstraite du gène et la chimie. Il devenait dès lors théoriquement possible de manipuler l'information génétique

autrement que par le contrôle de la reproduction ou la mutagenèse chimique aléatoire. Encore fallait-il pour cela que l'on inventât les techniques qui constituent ce que l'on appelle le génie génétique. Celles-ci comprennent au minimum l'isolement des gènes, la détermination et la modification de la séquence des bases des gènes, l'as-

* Correspondance et tirés à part.

Adresse e-mail : houdebine@jouy.inra.fr (L.-M. Houdebine).

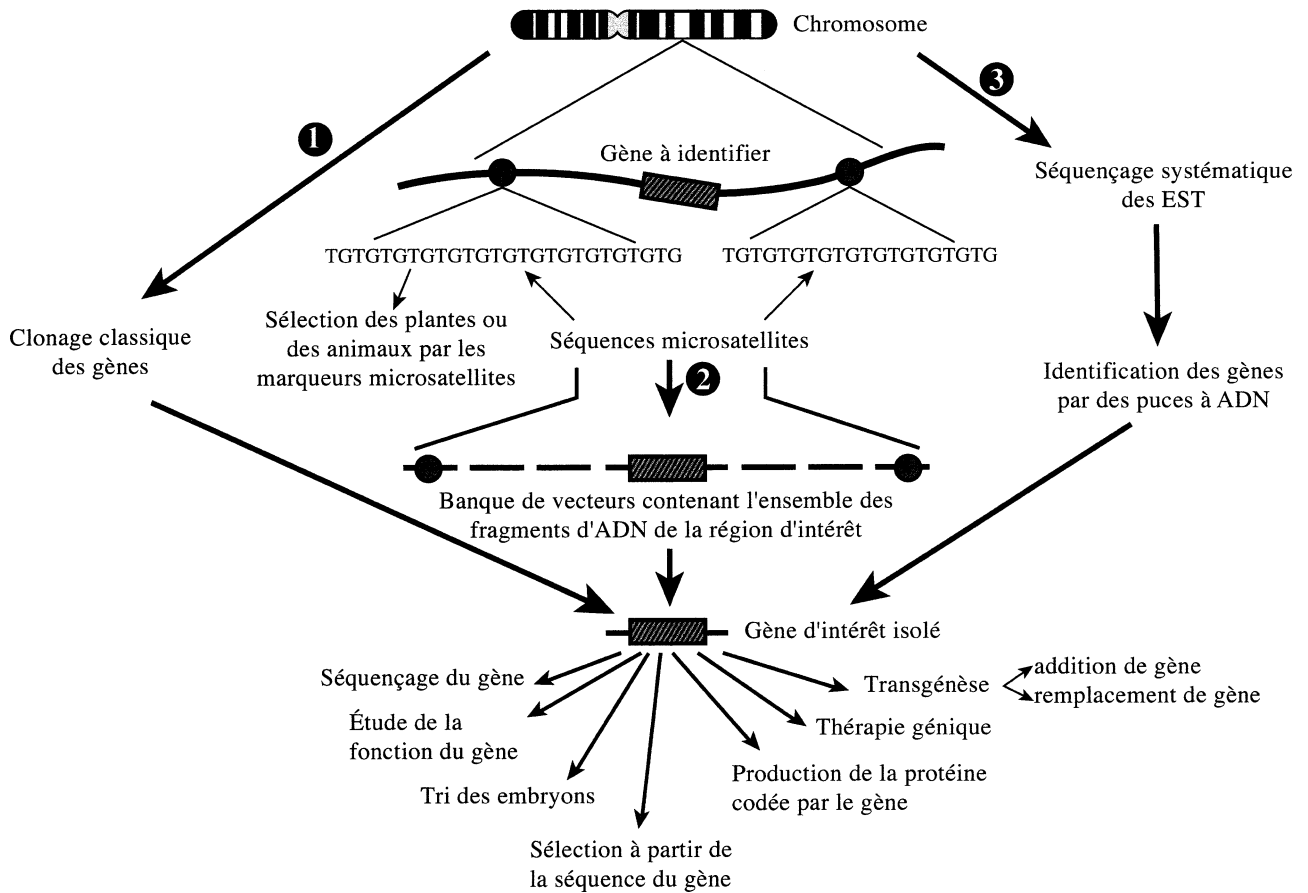


Figure 1. Les différentes méthodes d'isolement et les différentes utilisations des gènes. 1) Les gènes sont recherchés à partir de la protéine correspondante dont on connaît les propriétés biologiques biochimiques. 2) Les gènes sont recherchés en utilisant la cartographie des génomes basés essentiellement sur la sélection des microsatellites et des gènes d'intérêt. Ce procédé, qui est utilisé pour la recherche de gènes responsables des maladies génétiques héréditaires, implique que l'on dispose de familles d'individus présentant ou non la maladie, mais ne suppose pas que l'on connaisse quoi que ce soit des protéines et des gènes concernés. 3) Les gènes sont identifiés à la suite du séquençage systématique des génomes. Des puces à ADN permettent virtuellement d'identifier tous les gènes exprimés dans un tissu donné. La transgénèse occupe une place essentielle dans l'étude et l'exploitation des gènes.

semblage de fragments d'ADN naturels ou synthétiques pour reconstruire de nouveaux gènes et la réintroduction des gènes isolés dans de cellules ou des organismes entiers pour en étudier les effets ou en tirer partie pour des applications médicales et pharmaceutiques.

Les principales techniques du génie génétique ont été définies pour l'essentiel il y a environ 25 ans et la réintroduction d'un gène fonctionnel dans un animal suivie d'un effet phénotypique visible a été réalisée pour la première fois en 1982. L'expérience, qui a consisté à introduire le gène de l'hormone de croissance de rat dans des souris qui sont devenues géantes a été saluée à juste titre. Elle ouvrait en effet des perspectives considérables qui se sont transformées en réalités désormais quotidiennes.

Malgré ses limitations théoriques et techniques, la transgénèse rend des services inestimables aux biologistes et ses applications médicales ainsi qu'agrono-

miques commencent à être très significatives [1] (Fig. 1). Cet article se propose de faire le point sur l'état des techniques de la transgénèse qui sont en constante amélioration, sur les applications actuelles ainsi que futures et plus particulièrement celles qui touchent le domaine médical.

2. LES TECHNIQUES DE LA TRANSGÉNÈSE

Un fragment d'ADN contenant un gène complet ne pénètre que très difficilement dans une cellule. Une telle molécule est trop grosse et trop chargée pour franchir spontanément la membrane plasmique des cellules. Pour espérer créer des lignées de plantes ou d'animaux transgéniques, les gènes étrangers doivent être présents dans les gamètes des organismes qui se reproduisent.

2.1. L'addition de gène

Pour atteindre ce but un moyen théoriquement simple consiste à faire pénétrer l'ADN dans les spermatozoïdes, les ovocytes ou le pollen. En pratique, il est possible d'engendrer des animaux transgéniques en incubant des spermatozoïdes en présence d'ADN avant de procéder à une fécondation in vivo ou in vitro. Il est de même possible de transférer des gènes étrangers dans les ovocytes à l'aide de vecteurs rétroviraux semblables à ceux utilisés pour la thérapie génique. Ces deux méthodes sont assez peu efficaces et non utilisées en routine.

La méthode définie il y a 20 ans consiste à injecter le gène isolé directement dans un des pronoyaux de l'embryon au stade une cellule. Cela est possible chez les mammifères car les embryons sont suffisamment transparents pour que les pronoyaux soient visibles et accessibles. Chez les vertébrés inférieurs et les invertébrés, les embryons sont souvent protégés par une coque et ils contiennent une imposante réserve nutritionnelle, le vitellus, qui les rendent opaques. La micro-injection de gène ne peut alors avoir lieu que dans le cytoplasme des embryons. Ces méthodes sont laborieuses mais exploitables et très utilisées selon les espèces.

Chez les végétaux, le transfert de gène dans les embryons au stade une cellule est très difficile et très peu exploité. La technique de clonage maîtrisée bien avant la transgénèse, chez certaines espèces au moins, est systématiquement mise en œuvre pour engendrer des plantes transgéniques. La méthode consiste à transférer des gènes étrangers dans des cellules différenciées de feuille à l'aide du vecteur Ti de la bactérie *Agrobacterium tumefaciens* ou de manière purement mécanique avec un canon à gène qui projette des billes microscopiques recouvertes d'ADN dans les cellules. Après sélection des cellules qui ont intégré le gène étranger, celles-ci sont différenciées in vitro par un milieu approprié pour redonner des embryons capables de donner naissance à des plantes clonées transgéniques.

Un procédé formellement analogue a été mis au point récemment chez les animaux. Des cellules fœtales reçoivent in vitro le gène étranger et sont ensuite utilisées comme donneuses de noyaux introduits dans des ovocytes énucléés pour donner naissance à des animaux clonés transgéniques. Le projet qui a donné naissance à la brebis clonée Dolly avait très précisément pour but de simplifier la transgénèse.

2.2. Le remplacement de gène

Les techniques décrites dans le paragraphe qui précède ont toutes pour effet d'introduire au hasard un gène étranger dans un génome. Il s'agit donc de l'addition d'un gène supplémentaire à un génome.

Il est infiniment souhaitable de cibler l'introduction d'un gène étranger pour le placer dans un endroit choisi

du génome. Cela évite en effet toute introduction intempestive dans une région fonctionnelle du génome hôte. Cela permet surtout de procéder très précisément à un remplacement de gène qui peut se traduire en pratique par l'inactivation d'un gène de l'hôte (si un gène inactif le remplace) ou par une substitution parfaitement spécifique d'un allèle par un autre.

Le remplacement de gène repose sur un phénomène naturel que l'on appelle la recombinaison homologue. Celle-ci a lieu lorsqu'une cellule reçoit un fragment d'ADN étranger ayant une séquence identique dans certaines régions au moins au gène ciblé. Cet événement est rare et il est largement exploité chez les bactéries, les levures et les animaux, mais non chez les végétaux où de telles recombinaisons ne sont que très rarement observées. La sélection des cellules dans lesquelles la recombinaison homologue a eu lieu s'étale sur plusieurs semaines. Ces cellules ne peuvent donc pas être des embryons précoces et elles doivent donc être capables d'une manière ou d'une autre de participer au développement d'un embryon qui lui-même donnera naissance à un organisme capable de transmettre la mutation à sa descendance.

Une technique laborieuse mais exploitable a été définie il y a une douzaine d'années. Elle consiste à établir des lignées de cellules souches embryonnaires pluripotentes (cellules ES) de procéder au remplacement de gènes et de réintroduire les cellules mutées dans des embryons précoces pour obtenir des embryons chimères puis des lignées d'animaux porteurs de la mutation (Fig. 2).

Malgré les nombreux efforts consentis et pour des raisons encore inconnues, ce protocole n'est couronné de succès que si l'on utilise les cellules ES provenant de deux lignées de souris seulement.

La technique de clonage qui a été mise au point pour ajouter des gènes s'est avérée également appropriée pour procéder à des remplacements des gènes par recombinaison homologue (Fig. 2).

2.3. La construction des gènes

De nombreuses expériences à commencer par la première réalisée en 1980 ont montré que les transgènes sont souvent inactifs ou exprimés de manière intempestive dans des types cellulaires inattendus. Cela vient très clairement du fait que les constructions de gène faites au laboratoire sont réalisées avec un empirisme qui ne prend que partiellement en compte la complexité fondamentale des gènes. Ceux-ci comportent en effet de nombreux signaux repartis dans les régions promotrices et parfois très en amont du début du site d'initiation de la transcription. Beaucoup de signaux sont également présents dans les régions non traduites et les introns.

L'expérience montre qu'il est essentiel d'ajouter au moins un intron à un ADN complémentaire ou mieux d'utiliser le gène sous sa forme native lorsque cela est

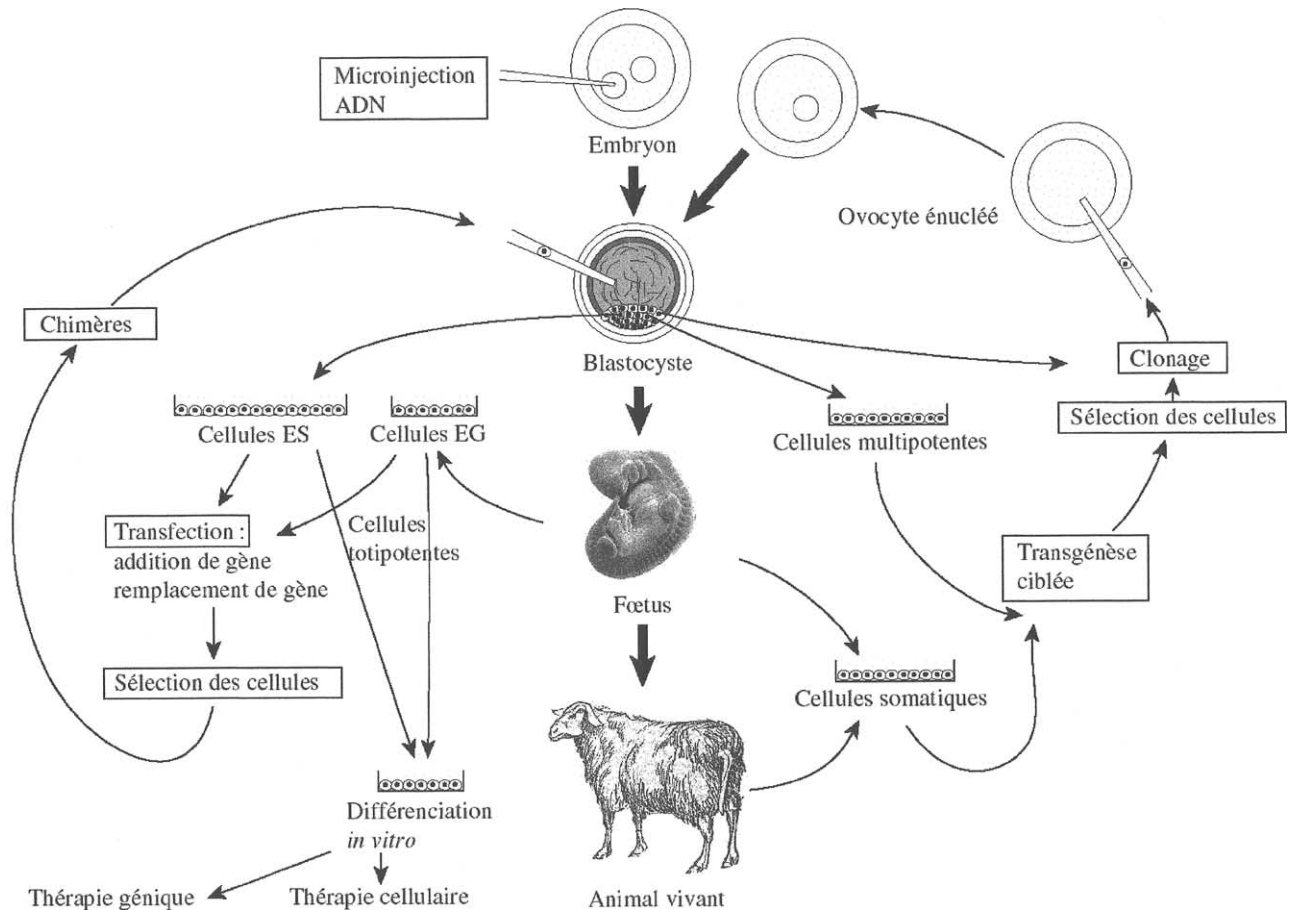


Figure 2. Les différentes méthodes pour l'addition ou le remplacement de gène. Les gènes peuvent être introduits dans les gamètes utilisés ensuite pour la fécondation. Les gènes peuvent être injectés directement dans les pronoyaux ou le cytoplasme des embryons au stade une cellule selon les espèces. Les gènes peuvent être ajoutés ou remplacés par recombinaison homologue dans des cellules fœtales dont les noyaux sont ensuite utilisés pour engendrer des animaux clones transgéniques. Chez la souris, des lignées de cellules embryonnaires pluripotentes sont utilisées pour procéder à un remplacement de gène suivi de la formation d'embryons chimères qui transmettent leur mutation à leurs descendants. Le clonage peut conduire à la régénération d'embryons à partir de cellules somatiques. Les cellules embryonnaires ayant ou non reçu un gène étranger peuvent en principe être différenciées en cellules souches d'organes capables de régénérer un tissu.

possible. Il est également capital de border les transgènes par des isolateurs qui naturellement encadrent les gènes. La connaissance de ces éléments qui progresse maintenant assez rapidement laisse augurer que la maîtrise de l'expression des transgènes va, dans les années qui viennent, être le fruit d'une approche raisonnée et non plus procéder par tâtonnement [1].

3. LES APPLICATIONS DE LA TRANSGÈNESE

3.1. Les organismes transgéniques comme source d'information

Personne ne saurait faire le recensement des animaux et des plantes transgéniques qui ont été utilisés depuis 20 ans

pour des recherches fondamentales tant ils sont nombreux et variés. Cette tendance ne va que s'accroître avec la mise à disposition de l'ensemble des gènes de plusieurs génomes (Fig. 1).

À cet égard, quelques organismes modèles vont continuer à être mis à contribution. Il s'agit surtout de la souris, de la drosophile, d'un nématode (*C. elegans*), du poisson zèbre, et chez les plantes de l'arabidopsis ainsi que du tabac et de la tomate.

Environ 3 000 gènes ont été inactivés par remplacement de gène chez la souris [2] et l'expression de 6 000 gènes a été inhibée par ARN interférence chez *C. elegans*. Cette dernière méthode consiste à introduire un ARN double bien spécifique d'un ARN messager dans une cellule ou un organisme entier, directement ou par l'intermédiaire d'un transgène. Cette opération relativement simple se

traduit par une inactivation de l'ARN messager correspondant par un mécanisme encore incomplètement compris. Ce phénomène inattendu a été observé initialement chez les végétaux par des expériences de transgénèse. Il a été retrouvé chez les animaux invertébrés et vertèbres inférieurs. Il semble très atténué chez les mammifères.

Le phénomène d'ARN interférence, mais également l'utilisation d'ARN antisens monocaténaire formant des hybrides spécifiquement avec un ARN messager donné ou de ribozymes qui dégradent les ARN messagers ciblés peuvent contrôler l'expression des gènes cellulaires ou viraux. Il en est de même, en principe, pour les ARN capables de former localement une triple hélice avec l'ADN qui inhibe la transcription. Notons enfin que la surexpression de protéines mutées appelées transdominants négatifs peut très spécifiquement annuler presque totalement les effets de la protéine cellulaire correspondante.

Plusieurs systèmes permettent à un transgène de n'être activé que sous l'influence d'un agent inducteur exogène qui n'altère aucunement l'expression des gènes hôtes. Il est aussi possible d'activer de manière réversible et très spécifiquement des transgènes en ajoutant de la tétracycline à l'eau de boisson des souris.

L'addition de gène mais plus encore l'inactivation de gène par recombinaison homologue permet de créer des modèles nouveaux et parfois très pertinents pour l'étude de maladies humaines même complexes. Il existe ainsi des souris qui miment la maladie d'Alzheimer, les maladies à prion ou la chorée de Huntington. Ces modèles d'une importance inestimable ne peuvent que devenir plus nombreux et ils ne se cantonneront pas à la souris. L'amélioration des techniques de transgène permet de plus en plus de faire appel à des rats, des lapins, des porcs et dans le futur probablement à quelques primates supérieurs non humains.

3.2. La préparation de protéines d'intérêt pharmaceutique

Très peu de protéines sont traditionnellement utilisées directement comme agents thérapeutiques. Cela tient à la méconnaissance des protéines candidates et à la difficulté de les obtenir en quantité suffisante. La connaissance approfondie du génome humain va permettre d'identifier de nombreuses protéines potentiellement utilisables comme médicaments. Les bactéries recombinantes sont une source désormais irremplaçable d'insuline, d'hormone de croissance, d'interféron, etc. Les cellules animales génétiquement modifiées en culture sont actuellement l'unique source d'érythropoïétine. Pour les protéines à structure complexe et devant être produites en quantité dépassant quelques centaines de grammes, le lait d'animaux transgéniques et peut-être un jour le blanc d'œuf de poulets transgéniques sont la source de protéines humaines variées (facteurs sanguins divers, hormones, facteurs de croissance, protéines de structure, enzymes

anticorps monoclonaux, etc.) [4]. Plusieurs de ces protéines sont en phase 1 à 3 d'essais cliniques. Plusieurs protéines, dont des anticorps monoclonaux fonctionnels, ont également été à partir des plantes transgéniques [5].

Le nombre de protéines qui seront ainsi utilisées est imprévisible mais limité. La variété fondamentale des anticorps monoclonaux laisse augurer une utilisation extrêmement diversifiée dans un futur qui n'est probablement pas très éloigné. Les anticorps monoclonaux peuvent en effet inactiver des pathogènes contre lesquels aucun traitement efficace n'existe. Ils peuvent également apporter aux cellules tumorales des substances toxiques (ions radioactifs, toxines, gènes tueurs) et aux cellules normales des facteurs de croissance, des enzymes, etc. [6].

3.3. L'adaptation d'organes de porc pour la transplantation à l'homme

La pénurie d'organes humains a fait penser il y a déjà un siècle que des organes animaux pourraient constituer un substitut intéressant. Le rejet particulièrement intense des organes animaux, même en présence d'immunosuppresseurs, n'a pas permis leur utilisation à des fins cliniques. La transgénèse expérimentale permet de mieux comprendre les très grands mécanismes de rejet et des xéno greffons [7]. Ces mêmes techniques ont conduit à l'obtention de porcs transgéniques exprimant les gènes DAF et CD59 humains dont les reins et les cœurs sont nettement moins agressés par l'activation du complément après avoir été greffés à des singes.

Ces résultats encourageants bien que préliminaires laissent penser que l'addition d'autres gènes étrangers au porc mais aussi l'inactivation de certains de ses gènes responsables de la synthèse d'antigènes majeurs qui activent les mécanismes de rejet amèneront à l'obtention d'animaux réellement exploitables comme source d'organes et de cellules.

À ces difficultés fondamentales s'ajoute le fait que le génome des porcs contient des séquences rétrovirus fonctionnelles, qui donnent naissance à des particules rétrovirales qui peuvent expérimentalement infecter certaines cellules humaines.

3.4. Les applications agronomiques de la transgénèse

Plusieurs dizaines de plantes transgéniques sont actuellement utilisées pour produire de la nourriture pour les animaux et beaucoup plus accessoirement pour l'homme.

Aucun animal transgénique n'est actuellement sur le marché des aliments humains. Les premiers animaux qui pourraient être ainsi exploités sont les poissons à croissance accélérée. Les problèmes environnementaux empêchent actuellement que des piscicultures abritant de tels animaux soient installées.

Tableau I. Les différentes utilisations de la transgénèse théoriquement applicables à l'élevage. Les types de gènes utilisables pour le transfert aux animaux domestiques

Les gènes qui ne modifient pas les propriétés physiologiques des animaux

Gènes de résistance aux maladies

réduction de l'utilisation des antibiotiques

meilleur productivité

simplification des élevages

réduction du mal-être animal

réduction du transfert de la maladie à l'homme

Les gènes destinés à améliorer les méthodes d'élevage

le gène de phytase chez le porc pour réduire les rejets polluants de phosphate

Les gènes destinés à améliorer les performances génétiques des animaux

gènes d'hormone de croissance (porc, poissons)

gènes pour la croissance de la laine

gènes permettant une meilleur utilisation de la ration alimentaire

Les gènes destinés à synthétiser des alicaments

suppression de certains composants du lait (lactose, β -lactoglobuline, caséines)

sécrétion d'anticorps recombinants, d'oligosaccharides dans le lait

Les gènes destinés à produire des médicaments (dans le lait) des animaux concernent les patients, pas les consommateurs

Les perspectives dans ce domaine sont rien moins que considérables et elles sont résumées dans les Tableaux I et II.

4. CONCLUSION

Il fait peu de doute que la maîtrise des techniques qui permettent d'obtenir des organismes génétiquement modifiés est une des grandes conquêtes de l'humanité.

La connaissance du vivant qu'apporte la transgénèse est un apport inestimable à la médecine. La transgénèse permet en effet de mieux comprendre les maladies humaines, de participer à la mise au point des médicaments chimiques traditionnels et directement d'être à l'origine de protéines ayant des activités thérapeutiques.

Les perspectives offertes par la xénogreffe sont incertaines tant les obstacles à franchir sont nombreux. Les espoirs qu'elle avait soulevés il y a dix ans sont quelque peu retombés. La sous-estimation des difficultés fondamentales de l'entreprise est une des raisons. La découverte de retrovirus porcins capables d'infecter les cellules humaines a fait apparaître un problème qui n'est pas véritablement nouveau ni probablement insoluble, mais qui ne peut que retarder et compliquer l'exploitation éventuelle de la méthode. La possibilité d'obtenir des cellules souches d'organes à partir de cellules souches embryonnaires (Fig. 2) ou d'autres cellules souches d'organes [8] qui a été révélée dans son principe ces toutes

dernières années invite à réévaluer l'importance de la xénogreffe de cellules.

Le manque de nourriture dont souffrent encore de nombreuses communautés humaines impose que l'on explore toutes les techniques capables d'améliorer la production globale d'aliments. Cela est d'autant plus vrai que la population humaine va considérablement augmenter dans les décennies qui viennent. La transgénèse peut apporter des solutions nouvelles et puissantes. Ces mêmes techniques ont commencé à apporter des modifications substantielles dans la manière de cultiver certaines plantes vivrières dans les pays développés. L'utilisation de la transgénèse pour améliorer les productions animales ne connaîtront pas un succès aussi rapide ni probablement aussi intense que pour les productions végétales. Le mode de reproduction des plantes font en effet qu'elles peuvent être distribuées beaucoup plus aisément et réversiblement que les animaux d'élevage [9, 10].

La transgénèse est un outil et rien d'autre. Elle sera mise au service d'une agriculture exagérément productiviste, si c'est ce qu'on lui demande. Elle peut tout aussi bien aider à l'émergence de nouveaux produits qualitativement mieux adaptés à l'alimentation humaine. Le riz doré en est un exemple éloquent. Ce riz contient plus de vitamines A et de fer que les variétés non transgéniques. Cet organisme génétiquement modifié (OGM) a été obtenu dans le but précis d'apporter aux 400 millions d'individus qui souffrent de carence en vitamine A [8],

Tableau II. Les différentes utilisations de la transgénèse théoriquement applicables à l'agriculture

1. Utilisation des plantes transgéniques	
Résistance aux maladies moins de pesticides culture simplifiée rendement augmenté	Exemple : maïs Bt résistant à la pyrale
Résistance aux herbicides moins d'herbicides culture simplifiée rendement augmenté	Exemple : soja résistant aux herbicides
Contrôle de la maturation fruits plus sapides transport facilité rendement en matière solide augmentée	Exemples : tomate Savor Flavor melon fruit contenant plus de terpénoïdes
Addition d'alicaments lutte contre les carences alimentaires	Exemples : riz doré supplémenté en Vitamine A Fer
2. Utilisation des plantes transgéniques	
Adaptation des plantes aux sols conquête de nouvelles terres rendement augmenté culture simplifiée	Exemples : plantes poussant sur des sols salé ou alcalin plantes résistantes à la sécheresse plantes résistantes au vent plantes poussant sans apport d'azote
Détoxification des sols (phytoremédiation)	
Changement de composition des plantes	Exemples : protéines riches en acides aminés rares arbres riches en cellulose et pauvres en lignines taille des grains d'amidon tournesol riche en acide oléique
Préparation de molécules d'intérêt pharmaceutique	Exemple : antigène vaccinant de l'hépatite B lipase de chien anticorps
Préparation de molécules pour l'industrie	Exemples : huiles (détergents, carburants ...) précurseurs de plastiques biodégradables précurseurs pour des molécules d'intérêt pharmaceutique

et dont 20 % tomberont aveugles ainsi qu'aux quatre milliards qui manquent de fer, les suppléments dont ils ont le plus besoin. Il est probable que la teneur en vitamine A de ce riz dans sa version actuelle est insuffisante pour pallier toutes les carences des consommateurs. Son impact peut tout de même être plus que significatif. Il est par ailleurs remarquable que cet OGM a été obtenu par des laboratoires académiques essentiellement à l'aide des fonds publics dans le seul but d'aider les plus démunis. Cela dé-

montre que l'aventure des OGM peut être très bénéfique pour la santé humaine. Il reste certes à évaluer les effets environnementaux des OGM cultivés en masse, ainsi que leur innocuité pour les consommateurs. La très grande majorité des biologistes qui connaissent ce sujet voient dans les OGM nettement plus d'avantages que d'inconvénients pour l'environnement autant que pour la santé humaine. Il est plus que regrettable que les opposants aux OGM refusent par principe de reconnaître le bien-fondé

de la démarche, même s'il faut craindre les appétits jamais satisfaits de certains industriels. Les consommateurs sont, quant à eux, très mal informés, voire délibérément désinformés [11]. Cela ne peut profiter qu'à un petit nombre au dépend de la majorité, qui risque fort de se retrouver à moyen terme plus dépendante encore qu'elle ne l'imaginait vis-à-vis des groupes qui auront eu le temps en toute légalité de s'approprier l'essentiel de la propriété industrielle dans ce domaine d'une importance géopolitique majeure en raison même de son champ d'activité qui couvre l'alimentation et la santé humaine.

RÉFÉRENCES

- 1 Houdebine LM. Modifications génétiques animales et végétales : méthodes de transgénèse et expression des transgènes. *Med Sci* 2000 ; 16 : 1017-29.
- 2 Babinet C, Cohen-Tannoudji M. Vingt ans d'interventions délibérées sur le génome de la souris : une révolution dans l'approche génétique de la biologie des mammifères. *Med Sci* 2000 ; 16 : 31-4.
- 3 Timmons L, Fire A. Specific interference by ingested dsRNA. *Nature* 1998 ; 395 : 854.
- 4 Houdebine LM. Transgenic animal bioreactors. *Transgenic Res* 2000 ; 19 : 305-20.
- 5 Fischer R, Emans N. Molecular farming of pharmaceutical proteins. *Transgenic Res* 2000 ; 9 : 279-99.
- 6 Houdebine LM. Peut-on guérir le cancer avec les OGM ? Éditions le Pommier ; 2002.
- 7 Houdebine LM, Weill B. The impact of transgenesis and cloning on cell and organ xenotransplantation to humans. In : Van Brockhoven A, editor. *Novel Frontiers in the Production of corresponds for Medical use*, vol. 1, 2000, p. 351-61.
- 8 Houdebine LM. Clonage, Transgénèse et Thérapie cellulaire. In : Martal J, editor. Paris : Éditions INSERM-INRA ; 2002, p. 59-75.
- 9 Houdebine LM. Transgénèse animale et clonage. Paris : Dunod ; 2001.
- 10 Houdebine LM. L'amélioration génétique des animaux de rente par la transgénèse. *C R Acad Agric* 2000 ; 86 : 37-48.
- 11 Houdebine LM. OGM le vrai et le faux. Éditions le Pommier ; 2000.