

Les modèles animaux en recherche biomédicale

le XX^e siècle a vu un bouleversement majeur de la recherche en biologie avec le séquençage de nombreux génomes, leur comparaison et des avancées spectaculaires dans leur manipulation. Cet ensemble de connaissances appliqué à la recherche biomédicale a permis la création et le partage de modèles animaux pertinents et innovants dans tous les domaines de la biologie.

* Centre d'Immunologie de Marseille-Luminy, Inserm-CNRS-Université de la Méditerranée, Case 906, 13288 Marseille Cedex 9, France.

** Chargée de mission « expérimentation animale » Direction générale pour la recherche et l'innovation. Ministère de l'enseignement supérieur et de la recherche. 1, rue Descartes, 75231 Paris Cedex 05

*** UMR Physiologie de la Reproduction et des Comportements Inra-CNRS-Université François-Rabelais Tours-Haras nationaux, 37380 Nouzilly

§ Institut Clinique de la Souris Institut de Génétique, Biologie Moléculaire et Cellulaire IGBMC, Inserm U964, CNRS, Université de Strasbourg UMR7104, Unité Transgenesis, Archiving of Animal Models, CNRS, TAAM, UPS44, 1, rue Laurent Fries, BP 10142 Parc d'Innovation 67404 Illkirch Cedex

§§ Inra, UMR1198 Biologie du Développement et Reproduction, 78352 Jouy-en-Josas, France

(1) Jaini R *et al.* (2010) *Nat Med* 16, 799-803

Marie Malissen *, Virginie Vallet-Erdtmann **, Florian Guillou ***, Yann Herault §, Jonathan Ewbank *, Louis-Marie Houdebine §§, Corinne Cotinot §§

L'article d'un groupe de recherche américain paru au mois de juin 2010 dans la revue *Nature Medicine* relance – une fois de plus – le débat sur la pertinence des essais thérapeutiques sur modèles animaux en recherche biomédicale (1) – débat lancé à partir d'un commentaire de cet article dans *Le Figaro* du 2 juin 2010. Ces chercheurs américains rapportent l'obtention d'un vaccin à action préventive et thérapeutique contre des tumeurs mammaires induites chez la souris. Ces résultats prometteurs suggèrent de nouvelles voix thérapeutiques permettant de traiter certains cancers du sein chez la femme. En réponse à cet article, les plus pessimistes retiennent que ces essais thérapeutiques ont été effectués sur un modèle animal fort éloigné de l'homme, d'autres au contraire soulignent la proximité des génomes de l'homme et de la souris et le bien fondé du modèle souris dans cet exemple particulier. Aux vues de ces récents résultats, il semble donc important de faire un point sur la pertinence des modèles animaux en recherche biomédicale.

Devant la diversité des modèles animaux, choisir le plus pertinent pour répondre à une question biologique donnée est une situation à laquelle le chercheur en recherche biomédicale est régulièrement confronté : quel modèle est le plus adapté à son domaine de recherche afin de tester une hypothèse ? La réponse n'est pas aussi simple qu'il pourrait paraître à première vue et la prise en compte de nombreux paramètres est nécessaire. Le premier consiste en la prise en considération du volet éthique préliminaire à toute expérimentation sur l'animal. Cette démarche accompagne en France celle réglementaire qui encadre toute mise en œuvre d'expérimentation sur l'animal (zoom p. 40).

Le modèle rongeur

À ce jour, la souris est considérée comme « le » modèle de choix pour élucider la fonction de protéines dans un organisme vertébré.

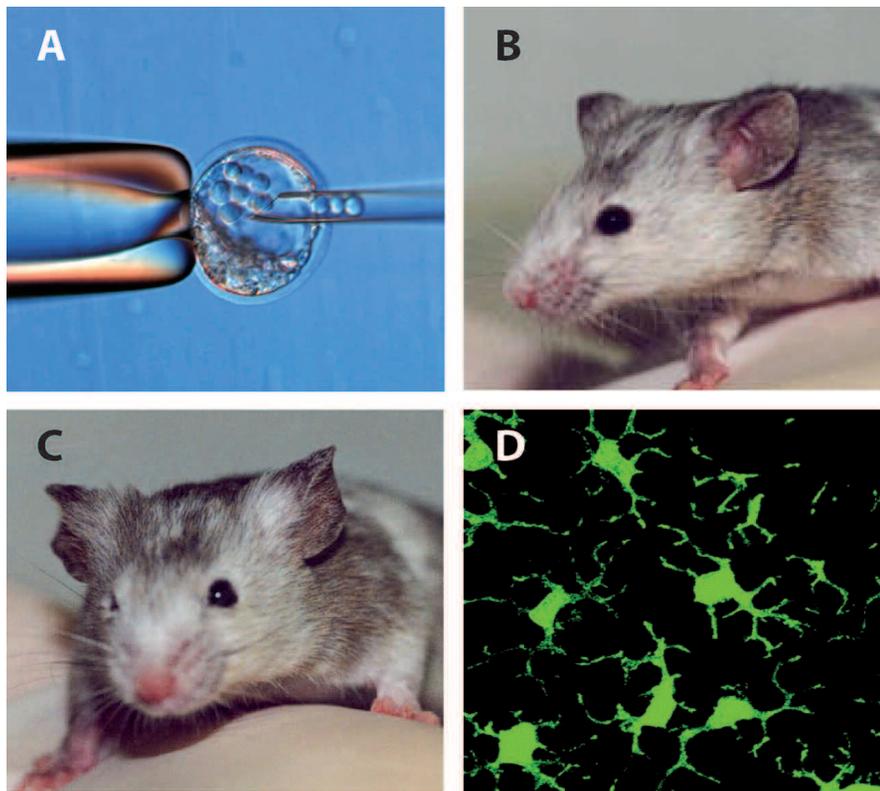
La souris : une boîte à outil génétique unique

L'importance des données génétiques obtenues chez la souris (*Mus musculus*), le séquençage complet de son génome et sa proximité phylogénétique avec l'homme font de la souris le modèle de choix de toutes approches génétiques et fonctionnelles dans les domaines de la recherche fondamentale, biomédicale ou pharmaceutique. À ces données génomiques s'ajoutent les outils de transgénèse et surtout la possibilité d'isoler et de cultiver des cellules souches embryonnaires (CSE) totipotentes modifiables in vitro et susceptibles de coloniser la lignée germinale. Cet outil, non égalé dans aucune autre espèce de mammifère, constitue un atout majeur du modèle souris (figures 1 et 3). À ce jour, ce sont plus de 10 000 gènes qui ont été inactivés chez la souris et le prix Nobel de médecine et de physiologie a été décerné en 2007 à M. R. Capecchi, M. J. Evans et O. Smithies pour leur travail sur les CSE et la recombinaison homologue.

Le ciblage génique chez la souris a permis de réaliser des progrès considérables dans quasiment tous les domaines de la recherche biomédicale et l'universalité de ce modèle est révélée en particulier dans la dernière enquête statistique sur les animaux utilisés à des fins scientifiques réalisée par le ministère de l'Enseignement supérieur et de la Recherche. Le plébiscite de la souris vient du fait qu'il s'agit d'un mammifère et donc que les mécanismes biologiques sont relativement similaires à ceux observés chez les autres mammifères, dont l'homme. Par ailleurs, la souris présente de nombreuses qualités zootechniques (animal de petite taille, capable de se reproduire rapidement et en grand nombre) et en tant que mammifère de laboratoire connu et étudié depuis plus d'un siècle avec des pionniers comme Lucien Cuenot (1866-1951), sa génétique est bien maîtrisée.

Historiquement c'est cependant la transgénèse additive, c'est-à-dire l'introduction d'ADN dans un œuf receveur conduisant à l'acquisition d'un nouveau caractère héréditaire, qui a permis dès 1980 de développer les premiers modèles souris en vue de l'élucidation de la fonction d'un gène ou des effets de mutations

Figure 1 : La souris, un modèle de choix



© A : FABIEN DANJAN - B ET C : MARIE MALISSEN - D : BERNARD MALISSEN

A. Injection de cellules souches embryonnaires (CSE) totipotentes issues de souris C57BL/6 (noire) dans un embryon de souris receveur, au stade blastocyste, issu de souris Balb/c (blanche).

B - C. Souris chimères obtenues à partir des blastocystes injectés décrit en A. Ces souris chimeriques issues de blastocystes de souris Balb/c donneront une descendance originaire des CSE de type C57BL/6 injectées. Des mutations peuvent être introduite à façon dans le génome de ces CSE maintenues dans des conditions de culture stricte.

D. Feuillet épidermique de l'oreille d'une souris Langerin-EGFP visualisé au microscope à fluorescence. Dans ce modèle, toutes les cellules exprimant la protéine Langerin expriment aussi une protéine verte fluorescente, EGFP, issue de la méduse *Aequorea victoria*. Ce modèle est un outil déjà utilisé par plus d'une centaine de groupes de recherche sur tous les continents, seulement quelques années après son développement.

spécifiques. Bien qu'ayant permis de grandes avancées, la transgénèse additive présente cependant certaines limites. Cette technique introduit des biais importants dans l'expression du transgène du fait de l'impossibilité de contrôler le point d'intégration et le nombre de copies intégrées (des modifications de la technique initiale par l'utilisation de larges fragments d'ADN clonés sous forme de chromosome artificiel bactérien (BAC) et la sélection du lieu d'intégration a amélioré considérablement cette méthode dont les applications restent malgré tout limitées.

La sophistication sans cesse croissante des approches de mutagenèse dirigée chez la souris a conduit à l'obtention de modèles de plus en plus performants conduisant à la possibilité de construire des modifications précises du génome reproduisant parfaitement des mutations ponctuelles ou des délétions identifiées chez certains patients humains. De plus, il est non seulement possible d'introduire une mutation ciblée, mais aussi de contrôler le tempo de son expression ou de la limiter à un tissu ou à un type cellulaire donné.

Validation d'un modèle murin

Les modifications simples du génome de la souris ont permis d'établir le rôle d'un gène particulier dans une fonction biologique ou une pathologie donnée et la création de modèles pour de très nombreuses pathologies dans des domaines très variés tels que l'immunologie, l'oncologie, les maladies métaboliques la reproduction et la neurobiologie. Par ailleurs, un effort international vise à effectuer l'inactivation de tous les gènes identifiés chez la souris (www.knockoutmouse.org) avec, à ce jour, le ciblage de 14 650 de ses 23 140 gènes. Un tel défi devra se poursuivre par le développement d'approches massivement parallèles et standardisées de phénotypage (2-4) (zoom p. 39).

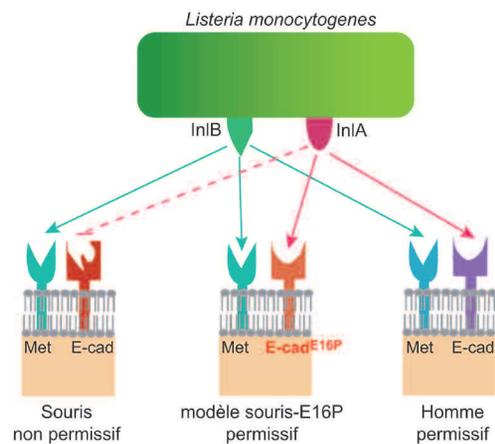
La validation d'un modèle animal de pathologie humaine nécessite une très bonne compréhension de la pathologie chez l'homme et ce sur la base de données cliniques. Le phénotype du modèle animal produit doit être étudié de manière globale avec une bonne évaluation des similarités et des différences. Les études d'un nouveau modèle visant à mimer une pathologie humaine ne peuvent en aucun cas se focaliser sur l'analyse des traits phénotypiques attendus : en effet, la mutation de gènes orthologues entre l'homme et la souris ne résulte pas toujours dans des phénotypes similaires. Deux autres aspects sont également à prendre en compte dans le développement et la caractérisation de nouveaux modèles : le caractère multigénique de nombreuses pathologies et l'influence du fond génétique dans leur développement. Ces deux aspects sont à ce jour encore peu pris en compte car ils représentent des difficultés supplémentaires d'ordres financier et éthique du fait qu'ils nécessitent une augmentation substantielle de la taille des élevages sans pour autant garantir une meilleure compréhension.

Plusieurs exemples de l'utilisation de modèles simples d'inactivation génique ont été répertoriés (5). Dans certains cancers, les effets secondaires observés chez des patients traités par une thérapie anti-ERBB sont similaires au phénotype observé chez les souris porteuses de mutations pour ce gène. Les mutations simples chez la souris sont donc particulièrement utiles pour toutes les approches pharmacologiques et leur développement est soutenu par le *Mouse Models of Human Cancer Consortium* (<http://emice.nci.nih.gov>). Dans toutes ces approches la possibilité de travailler sur plusieurs fonds génétiques permet de cerner le rôle que certains gènes modificateurs et présentant des polymorphismes de souche à souche peuvent avoir sur le développement de la pathologie.

- (2) Abbott A (2010) *Nature* 465, 410
- (3) Austin CP *et al.* (2004) *Nat Genet* 36, 921-4
- (4) Auwerx J *et al.* (2004) *Nat Genet* 36, 925-7
- (5) Roberts RB *et al.* (2004) *Cancer Cell* 5, 115-20

Figure 2 : « Humanisation » de la protéine E-cad

L'humanisation de l'E-cadhérine (E-cad) rend le modèle souris permissif à l'infection par *Listeria monocytogenes*. L'interaction entre une protéine de surface de *L. monocytogenes*, InlA, et une protéine de l'hôte, E-Cad, est nécessaire au passage de la barrière intestinale de l'hôte et donc à l'infection par la bactérie. La mutation d'un acide glutamique (E) en position 16 en proline (P), est suffisante pour rendre le modèle souris permissif à l'infection. (d'après (6))



Souris « humanisés »

Dans certains cas, l'existence de différences entre gènes orthologues humain et murin, notamment au niveau de leurs séquences régulatrices, ne permet pas de reproduire la pathologie souhaitée. Cependant, les avancées biotechnologiques actuelles permettent de contourner de tels problèmes et les trois exemples suivants montrent toute la flexibilité du modèle souris. L'humanisation de la souris ou le remplacement de son génome par un ou plusieurs gènes humains ou des modifications somatiques comme le transfert de cellules souches se sont développés pour créer des outils spécifiques humanisés en vue des essais cliniques.

• Modèles infectieux

De nombreux pathogènes sont restreints à des hôtes spécifiques. Il est donc difficile, pour certains pathogènes, d'avoir un modèle animal approprié et une infection par voie physiologique comme par exemple la bactérie *Listeria monocytogenes*, la bactérie responsable de la tuberculose *Mycobacterium tuberculosis* ou les virus des hépatites B et C (VHB et VHC). *L. monocytogenes* est capable, chez l'homme, de traverser la paroi intestinale, la barrière méningée et la barrière placentaire, causant respectivement gastroentérite, méningite ou infection fœtale. Chez l'homme, cette infection peut être très grave notamment chez les individus immunodéprimés. Le seul modèle naturellement permissif est la gerbille (*Meriones unguiculatus*) pour laquelle très peu de données physiologiques et génétiques sont disponibles. Afin de pénétrer à l'intérieur des cellules humaines, *L. monocytogenes* utilise l'E-cadhérine (E-cad). Ce récepteur membranaire présente naturellement une mutation chez la souris qui prévient son utilisation par *L. monocytogenes*. Le développement d'une souris présentant l'acide aminé présent sur l'E-cad permet de rendre les cellules de la souris sensibles à l'infection par *L. monocytogenes* (figure 2) (6). L'humanisation d'une protéine suffit ici à rendre la souris permissive à l'infection et offre ainsi tous les outils disponibles chez cet animal tels que la possibilité de croisement avec les multiples mutants affectant différents facteurs de l'hôte impliqués dans l'infection.

• α -thalassémie

Une mutation dans les séquences régulatrices du locus de l' α -globine cause une thalassémie chez l'homme dont la gravité dépend du nombre d'allèles affectés. Les séquences régulatrices ont été identifiées chez la souris et une mutation équivalente à celle trouvée chez l'homme a été reproduite. Cependant une souris porteuse de cette mutation à l'état homozygote ne reproduit pas la pathologie humaine. Depuis leur séparation phylo-génétique il y a 70 millions d'années, les divergences qui se sont manifestées entre l'homme et la souris ont conduit à l'existence de différences sensibles dans la régulation de l'expression de certains gènes. Afin de parer à de tels processus divergents, une équipe de recherche britannique a développé une nouvelle approche (*Recombinase Mediated Genomic Replacement*) aboutissant à l'échange complet du locus de l' α -globine de la souris par celui de l'homme créant ainsi un modèle pertinent d' α -thalassémie (7).

D'autres exemples d'humanisation existent avec le remplacement de régions plus ou moins importantes du génome de la souris par les régions synthétiques équivalentes humaine allant de plusieurs centaines à plusieurs milliers de kilobases incluant ainsi toutes les séquences régulatrices. La souris transchromosomique Tc1, contenant une copie presque complète du chromosome 21 humain et modèle de trisomie 21, montre la puissance de ce type de manipulation génétique (8).

• Humanisation du système immunitaire

L'humanisation du système immunitaire de la souris est aussi l'objet de nombreux essais. Le projet VelocityImmune de la société Regeneron par exemple vise à la production d'anticorps monoclonaux humains thérapeutiques chez la souris et l'humanisation a porté ici sur les locus des immunoglobulines (www.regeneron.com/velocimmune.html).

Dans d'autres approches, le remplacement du système immunitaire en quasi-totalité est souhaité et est réalisé par la création de chimères utilisant des hôtes immunodéficients sévères tels que les souris NOD/SCID/IL2rg. La combinaison de telles mutations – en éliminant en particulier les cellules *Natural Killers* – permet une bonne prise de la greffe de cellules souches hématopoïétiques humaines (9). Ces modèles particulièrement élaborés sont utilisés actuellement en cancérologie ou en transplantation mais aussi pour l'étude de maladies infectieuses impliquant les virus HIV1 ou VHC ou de bactéries comme *M. tuberculosis*, pathogènes pour lesquels la souris est un modèle naturellement non permissif.

Le rat un modèle en renouveau

Le rat a été un modèle de choix dans toutes les approches biomédicales et plus particulièrement dans le domaine cardiovasculaire, l'étude des fonctions cognitives et la reproduction. De nombreuses données physiologiques ont été obtenues sur ce modèle mais jusqu'à très récemment il était très difficile de valider ces données au travers d'outils génétiques. Le séquençage de plusieurs souches et la possibilité de mutagenèse dirigée réalisable par utilisation de nucléases en doigt de zinc ou l'isolement et la culture de cellules souches embryonnaires (10) vont permettre une montée en puissance de ce modèle qui offre cer-

(6) Disson O et al. (2009) *Nat Protoc* 4, 799-810

(7) Wallace HA et al. (2007) *Cell* 128, 197-209

(8) O'Doherty A et al. (2005) *Science* 309, 2033-7

(9) Ito M et al. (2002) *Blood* 100, 3175-82

(10) Jacob H.J (2010) *Methods Mol Biol* 597, 1-11

tains avantages par rapport à la souris dans les domaines précités. Par ailleurs, sa taille facilite des interventions chirurgicales difficiles chez la souris et sa durée de vie plus longue autorise des recherches sur le vieillissement et la sénescence. De nombreux nouveaux programmes de recherche internationaux démontrent l'intérêt retrouvé de ce modèle (11).

Les mammifères d'élevage

Les mammifères d'élevage ont historiquement contribué à plusieurs avancées majeures en recherche biomédicale avec par exemple la réalisation de la première fécondation in vitro chez le lapin, les premières autogreffes de cellules musculaires squelettiques dans le cœur chez le mouton, la mise au point de traitement préventif du syndrome de détresse respiratoire du nouveau-né chez l'ovin, l'isolement et le séquençage de la gonadolibérine (GnRH ou *Gonadotrophin-Releasing Hormone*) à partir d'hypothalamus de mouton et de porc ou plus récemment l'isolement des protéines prions à l'origine de maladies neurodégénératives. Une analyse bibliométrique effectuée dans le cadre du projet européen ERIN (www.erinetwork.eu/erin) à partir de la base de données Pubmed a montré que plus de 900 revues bibliographiques ont été publiées en janvier 2010 avec comme mots-clés « ruminant » et « modèle animal ». Plus de 600 références sont disponibles seulement pour l'année 2009 et le mouton est l'animal le plus largement utilisé parmi les ruminants.

Apparitions de nouveaux modèles

Le développement de la transgénèse (additionnelle ou inactivation par recombinaison homologue) a contribué à étendre l'utilisation de ces animaux comme modèles de pathologies humaines. Elle a également permis de produire des molécules humaines d'intérêt pharmaceutique isolées à partir du lait ou du sang de plusieurs espèces comme le lapin, la chèvre ou le bovin.

Par ailleurs, le développement d'outils d'analyse à haut débit de la structure et du fonctionnement des génomes a revitalisé les approches de la physiologie comparée en tirant parti de spécificités d'espèces dans le choix du modèle d'étude fondamentale ou appliquée : le lapin par exemple, pour l'étude des dérégulations du métabolisme lipidique car les taux circulants d'HDL ou de VLDL chez cette espèce sont (contrairement à la souris) aussi élevés que chez l'homme ; les ongulés (surtout bovin et ovin), espèces mono ovulantes dont la taille et la longue durée de gestation permettent non seulement de suivre in vivo, par imagerie médicale, le développement du fœtus et d'intervenir sur son développement, mais aussi d'induire à partir de dérégulations transitoires des échanges nutritionnels fœto-placentaires, l'apparition à long terme (après la naissance) de physiopathologies de l'adulte comme la résistance au glucose ou l'obésité (programmation fœtale). L'étude de l'impact de l'environnement (par exemple, l'alimentation maternelle et les perturbateurs endocriniens) sur le développement embryonnaire et fœtal et le phénotype de l'individu adulte dans ces espèces monotoques (ayant un seul petit par portée) se révèle particulièrement pertinente comme modèle pour l'espèce humaine. Enfin, ces espèces ont large-

ment contribué au développement des technologies utilisées en procréation médicale assistée : stimulation ovarienne, manipulation des gamètes, maturation et fécondation in vitro, culture, congélation et transfert d'embryon, ainsi qu'à la mise au point de l'imagerie fœto-placentaire et des interventions chirurgicales chez le fœtus (12).

Avec l'essor du clonage, dont la faisabilité a d'abord été démontrée chez le mouton puis chez la vache avant d'être étendue aux autres animaux domestiques et de laboratoire, de nouvelles possibilités d'utilisation des mammifères d'élevage pour l'étude du fonctionnement des gènes ont vu le jour (13-15). Tout d'abord, les clones ont ouvert la porte à l'étude des mécanismes fondamentaux qui pilotent la variabilité phénotypique. Les clones sont, par essence, le modèle d'analyse des processus épigénétiques. En effet, comme ils partagent le même patrimoine génétique nucléaire (tout comme les jumeaux monozygotes), toute divergence phénotypique, les conditions d'élevage étant toutes égales par ailleurs, est à relier à des disparités épigénétiques (16).

De plus, cette biotechnologie, associée à la modification génétique des cellules donneuses de noyaux (transgénèse), a permis récemment de réaliser avec succès l'inactivation du gène du prion chez le bovin et la chèvre, offrant par la même de nouvelles possibilités d'études (17). Le clonage a permis d'envisager des études pilotes de thérapie tissulaire visant à suivre in vivo le devenir d'auto- et d'allogreffes à partir de cellules exprimant un gène rapporteur (18).

Le génome de plusieurs espèces animales, dont le bovin et le porc, est maintenant séquencé. Leur utilisation devient ainsi particulièrement pertinente pour des recherches en santé humaine du fait de leur proximité avec l'homme, souvent meilleure que la proximité homme-souris. Les méthodes de transgénèse de plus en plus sophistiquées permettent de disposer de modèles mieux adaptés (encadré ci-dessous et figure 3).

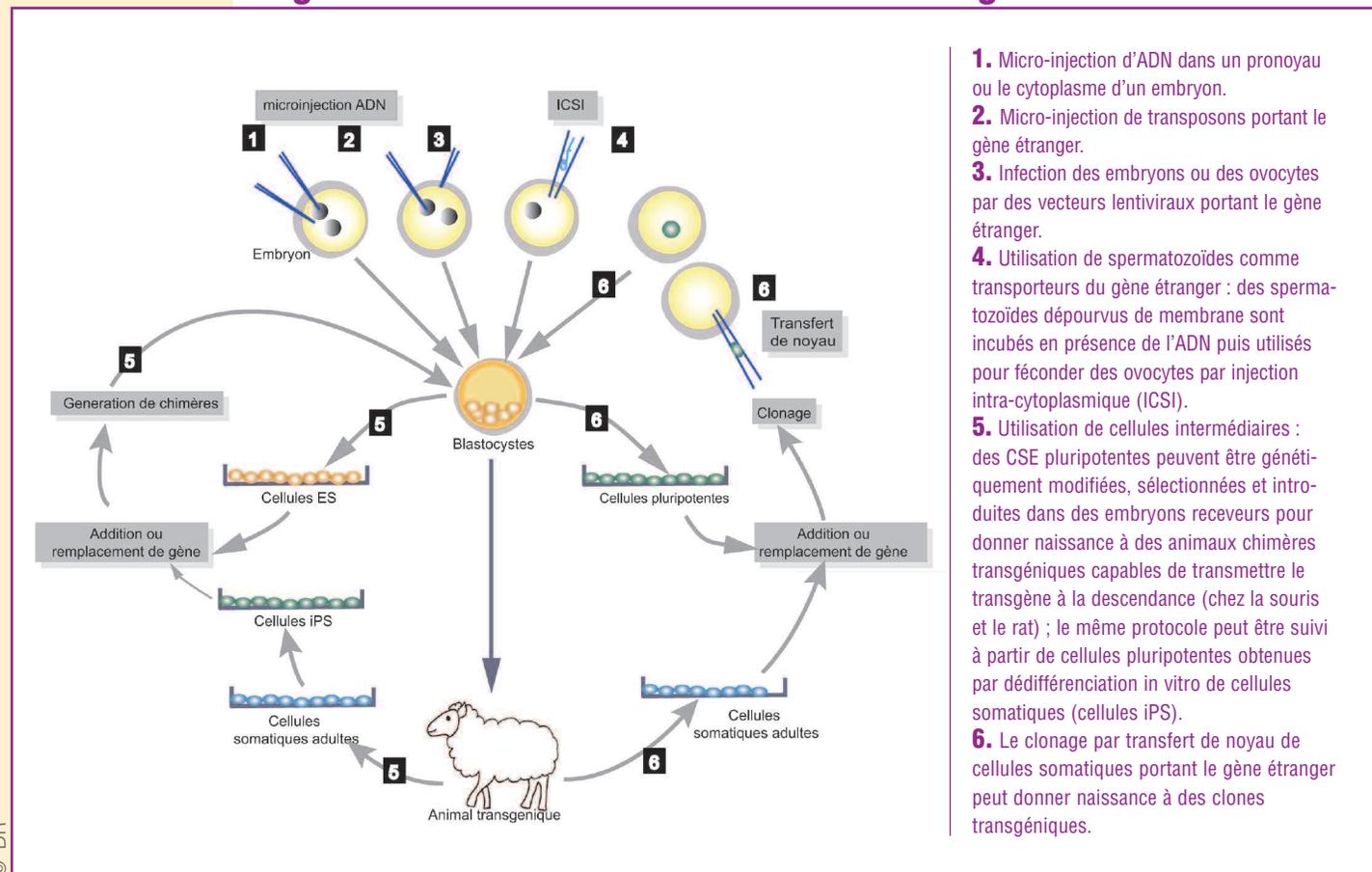
Utilisation de mammifères domestiques transgéniques à des fins biomédicales

1. Obtention de modèles pour l'étude de maladies humaines (1). Actuellement, une dizaine de maladies humaines sont étudiées chez des porcs transgéniques (2), le lapin et de plus en plus d'autres animaux domestiques (3,4)
2. Adaptation des organes du porc pour la transplantation à des patients. Les cellules et les organes de porc sont génétiquement modifiés via la transgénèse afin de ne plus être rejetés par les patients et il est prévu de procéder à des essais de greffes chez l'homme dans cinq ans.
3. Préparation de protéines pharmaceutiques. Des animaux sont désormais utilisés ou en développement pour produire en grande quantité des protéines médicamenteuses dans le lait et le blanc d'œuf (1) c'est le cas notamment du facteur IX qui permet de soigner certains hémophiles. Parmi les projets les plus prometteurs on peut citer celui qui consiste à inactiver les gènes d'immunoglobulines chez le lapin et la vache et de leur ajouter les gènes correspondants d'origine humaine. Ces animaux immunisés pourront produire des anticorps polyclonaux entièrement humains dirigés contre des pathogènes, des toxines, des cellules cancéreuses et des inducteurs des processus inflammatoires, ce qui permettra des thérapies contre des fléaux humains variés.

- (1) Houdebine LM (2009) *Comp Immunol Microbiol Infect Dis* 32, 107-21
- (2) Prather RS *et al.* (2008) *Biotechnology and Genetic Engineering Reviews* 25, 245-66
- (3) Houdebine LM, Fan J (eds)(2009) *Rabbit Biotechnology. Rabbit genomics, transgenesis, cloning and models*. Springer, 136 p.
- (4) Lewin HA (2009) *Science* 324, 478-9

- (11) Abbott A (2009) *Nature* 460(7257), 788
- (12) Dreyfus M *et al.* (1997) *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol* 71(1), 91-4
- (13) Challah-Jacques M *et al.* (2003) *Cloning Stem Cells* 5(4), 295-9
- (14) Vignon X *et al.* (1998) *C R Acad Sci Paris Life Sci* 321, 735-745
- (15) Wilmut I *et al.* (1997) *Nature* 385(6619), 810-3
- (16) Jammes H, Renard JP (2010) *Inra Prod. Anim.* 23 (1), 23-42
- (17) Richt JA *et al.* (2007) *Nat Biotechnol* 25(1), 132-8
- (18) Ritchie WA *et al.* (2009) *Mol Reprod Dev* 76(1), 61-4

Figure 3 : Les différentes méthodes de transgénèse chez les animaux



1. Micro-injection d'ADN dans un pronouau ou le cytoplasme d'un embryon.
2. Micro-injection de transposons portant le gène étranger.
3. Infection des embryons ou des ovocytes par des vecteurs lentiviraux portant le gène étranger.
4. Utilisation de spermatozoïdes comme transporteurs du gène étranger : des spermatozoïdes dépourvus de membrane sont incubés en présence de l'ADN puis utilisés pour féconder des ovocytes par injection intra-cytoplasmique (ICSI).
5. Utilisation de cellules intermédiaires : des CSE pluripotentes peuvent être génétiquement modifiées, sélectionnées et introduites dans des embryons receveurs pour donner naissance à des animaux chimères transgéniques capables de transmettre le transgène à la descendance (chez la souris et le rat) ; le même protocole peut être suivi à partir de cellules pluripotentes obtenues par dédifférenciation in vitro de cellules somatiques (cellules iPS).
6. Le clonage par transfert de noyau de cellules somatiques portant le gène étranger peut donner naissance à des clones transgéniques.

Mouton, chèvre, porc, lapin : les modèles de demain

La transgénèse est étroitement dépendante de la maîtrise des techniques de la reproduction. Son succès a été freiné par son caractère laborieux chez la plupart des espèces animales et par son coût chez les gros animaux. En effet, le nombre de fondateurs transgéniques est limité chez ces espèces et il est essentiel que les transgènes soient fonctionnels chez la majorité d'entre eux lorsque l'on désire faire exprimer une protéine d'intérêt pharmaceutique, par exemple. L'obtention de modèles animaux de maladies humaines par invalidation de gènes nécessite des efforts encore plus importants puisque l'événement d'intégration ciblée d'un transgène au niveau d'un gène est un événement extrêmement rare, de l'ordre de 1 par million. Les récentes avancées en matière de recombinaison ciblée obtenues grâce à l'utilisation des nucléases à doigt de zinc ouvrent de nouvelles perspectives pour ces espèces chez lesquelles il n'a toujours pas été possible d'obtenir de CSE (19), cellules dont la modification génétique ciblée est utilisée depuis de nombreuses années chez la souris pour l'obtention de modèles de maladies humaines. Des résultats prometteurs ont été obtenus chez le lapin chez lequel le gène responsable de la mucoviscidose (*CFTR*) a été inactivé grâce à l'utilisation de telles nucléases. 40 % des animaux nés de cette technique sont porteurs d'une mutation à l'état hétérozygote ou homozygote. Le fait d'obtenir dès la première génération des animaux homozygotes représente un énorme avantage dans ces espèces où l'intervalle entre générations est important et peut atteindre plusieurs mois ou années chez le porc et les ruminants, contribuant à la réduction du nombre d'ani-

maux utilisés. Des expériences sont actuellement en cours chez la chèvre avec cette technologie pour invalider des gènes clés de la différenciation ovarienne. Cette évolution très rapide de la place des mammifères d'élevage dans la recherche fondamentale et biomédicale conduit à la constitution de pôles scientifiques spécialisés regroupant, autour de plates-formes dédiées, des équipes de biologistes et de médecins chercheurs.

Des modèles nécessaires

Les avancées de la connaissance des génomes, le développement des biotechnologies de la reproduction (clonage, transfert embryonnaire) et les techniques de transgénèse (recombinaison homologue, nucléases et méganucléases à doigt de zinc) offrent maintenant un panel d'outils efficace pour créer des animaux modèles pour un grand nombre d'espèces. Malgré la nécessité de réduire de façon importante l'utilisation d'animaux de laboratoire pour les expériences scientifiques il est important de rappeler que la recherche biomédicale a un besoin crucial de modèles animaux reproduisant au mieux les pathologies humaines. Ces modèles animaux enrichissent les connaissances sur des maladies humaines et participent à la mise au point de traitements adaptés. Les modèles en développement issus de différentes espèces animales, mieux adaptés à des applications spécifiques, contribueront à limiter le nombre d'animaux utilisés car plus proches de la physiologie humaine. Ils apporteront sans aucun doute une contribution majeure dans le domaine de la santé au cours de la prochaine décennie. ●

(19) Geurts AM *et al.* (2010) *Methods Mol Biol* 597, 211-25