



par Bertrand JORDAN

*Généthon :
la réussite d'un pari*

Un coup d'éclat

Lors du déjà traditionnel colloque de Cold Spring Harbor à la fin du printemps de cette année, et plus récemment à Nice, au congrès « Human Genome » tenu pour la première fois hors des États-Unis, plusieurs annonces spectaculaires ont mis en relief les travaux réalisés au « Généthon ». Le palmarès est éloquent puisqu'il inclut la carte physique complète du bras long du chromosome 21 ainsi qu'une carte génétique humaine homogène et serrée fondée sur l'isolement de plus de 800 microsatellites hautement polymorphiques et leur positionnement précis. De plus, les progrès rapides d'une entreprise de cartographie physique de l'ensemble du génome humain permettent d'espérer sa couverture presque complète vers la fin de l'année en cours... sans oublier la montée en puissance du projet « Genexpress » qui a communiqué aux banques de données plus de 2 000 séquences partielles d'ADNc. Il s'agit là d'avancées de grande envergure, propulsant soudain notre pays à un rang plus glorieux que celui de lointain troisième auquel il semblait installé, et soulignant l'apport de structures et de personnalités très atypiques.

Un grand scepticisme

Un grand scepticisme régnait pourtant lorsque le projet du Généthon commença à s'ébruiter il y a à peine trois ans. Généthon avait pour parents deux organisations d'un modèle peu courant, le CEPH (Centre d'étude du polymorphisme humain) et l'AFM (Association française contre les myopathies). La première, dirigée par Jean Dausset et Daniel Cohen, est bien connue pour son rôle primordial dans la gestion et la diffusion d'une collection de famil-

les permettant de rendre cohérent l'établissement de la carte génétique, puis dans l'organisation de la collecte des données et de leur synthèse. Le CEPH s'était aussi impliqué depuis plusieurs années dans des activités de « génome lourd ». Certaines d'entre elles, comme le séquençage du complexe majeur d'histocompatibilité humain, avaient tourné court — comme d'ailleurs les autres entreprises de mégaséquençage lancées à la même époque de par le monde. D'autres semblaient marquer le pas, par exemple le programme LABI-MAP, dont le but affiché était de mettre au point, avec la société Bertin et d'autres partenaires, toute une « ligne » d'automates pour la biologie moléculaire. Le CEPH avait, en revanche, réussi à construire, dès cette époque, une banque YAC de bonne qualité, dont les clones avaient une taille moyenne élevée de l'ordre de 600 à 700 kilobases, nettement supérieure à celle de Saint-Louis (MO, USA). Néanmoins, pris globalement, les résultats scientifiques du CEPH pouvaient apparaître modestes en regard de sa taille et des ambitions de ses responsables.

En ce qui concerne l'AFM — suffisamment connue pour que l'on n'en retrace pas l'histoire —, elle avait déjà derrière elle plusieurs téléthons réussis, mobilisant chaque année des sommes très importantes, et était devenue un élément de poids dans la recherche génétique française. Son soutien, d'abord limité aux travaux directement liés aux maladies neuromusculaires, s'était bientôt étendu à l'ensemble des maladies génétiques. Mais l'aventure du Généthon devait marquer un changement d'échelle. Ce fut une décision presque solitaire des deux acteurs principaux, Daniel Cohen pour le CEPH et Bernard

Barataud pour l'AFM. Les conseils, commissions et comités d'évaluation auraient vraisemblablement reculé devant l'ampleur du pari : pas moins que la création de toutes pièces d'un puissant laboratoire d'étude du génome, aux dimensions d'un gros institut du CNRS (plus de 100 personnes), parfaitement équipé et doté d'un budget total (y compris les services) de plus de 70 millions de francs par an. Aspiration sous-jacente, sinon affichée : battre le programme génome américain sur son propre terrain, celui des cartes génétiques et physiques, tout en faisant faire un bond décisif à la recherche sur les maladies génétiques.

On comprend que le projet ait surpris. Les sommes mises en jeu paraissaient énormes par rapport aux 150 kilofrancs par an et par chercheur des laboratoires les mieux financés : on oubliait, bien sûr, qu'au Généthon ces montants — certes confortables — incluent les salaires et les amortissements. La confidentialité entourant ce lancement en indisposa beaucoup ; l'ambiguïté sur les fonctions réelles de Généthon — parfois présenté essentiellement comme un laboratoire de service — entretenait la confusion ; quant à la personnalité souvent abrasive des deux personnages en cause, elle n'aidait pas à croire à des objectifs que l'on pouvait, de bonne foi, considérer comme irréalistes. N'oublions pas qu'à cette époque commençait la tragi-comédie du « GIP génome », annoncé en grande pompe à l'automne 1990 et dont la structure n'est toujours pas en place deux ans plus tard, même si un conseil scientifique a attribué en 1992 des fonds dont chacun espère constater la réalité très prochainement. Dans cet imbroglio bien français, alors que les projets américain et même anglais

semblaient aller de l'avant sans accroc majeur, l'ambition de faire mieux qu'eux pouvait, à juste titre, apparaître comme déraisonnable.

Les premiers éléments connus du Généthon, et notamment le fameux atelier des Mark II, renforçaient les réserves des sceptiques. Cet appareil, seul résultat visible du programme LABIMAP, était le deuxième prototype d'une machine à *Southern blots*. D'une technologie intéressante, en particulier par sa façon d'intégrer migration et électrotransfert dans la même cuve sans manipulation supplémentaire, il semblait pourtant arriver trop tard et réaliser l'automatisation d'une méthode « obsolète ». Les microsatellites étaient en passe de remplacer les RFLP pour la carte génétique et la PCR rendait caduque la plupart des applications des *Southern blots*. De plus, la reproduction à l'identique et à vingt exemplaires de cette machine et de tous ses accessoires (alimentation électrique, système de refroidissement, ordinateur de commande) était très dispendieuse. Bref, on pouvait légitimement craindre que cet atelier ne devienne ce que l'on appelle outre-Atlantique un « éléphant blanc », un coûteux et inutile monument à une technologie dépassée. Lors de sa présentation au colloque de Cold Spring Harbor au printemps 1991, il suscita une majorité de commentaires ironiques — il est vrai que les Américains prennent plus facilement au sérieux la cuisine de notre pays que sa technologie... Enfin, sur un plan plus organisationnel, le choix, pour le Généthon, d'un personnel principalement composé de techniciens au niveau de qualification modeste était contestable : les quelques chercheurs présents, souvent à temps partiel d'ailleurs, arriveraient-ils à diriger durablement cette usine ? Très intéressé par cette tentative — qui répondait à certaines de mes interrogations sur le retard technologique de la biologie —, j'étais pourtant surpris devant la dimension donnée au projet, et je m'interrogeais sur son bien-fondé, d'autant qu'il absorbait une part très importante des crédits consacrés à la recherche par l'AFM. Beaucoup de scientifiques français partageaient cette réserve, accentuée par la méconnaissance des

butts réels de Généthon et par une certaine envie envers les collègues qui bénéficiaient de laboratoires si somptueusement équipés. Les critiques ne manquaient donc pas, et c'est dans un climat de scepticisme, pour ne pas dire d'hostilité, que les équipes d'Evry commencèrent à fonctionner à l'automne 1990.

Un premier frémissement

L'attitude du milieu commença pourtant à se modifier à l'égard du CEPH (et par extension du Généthon) lorsqu'il devint indéniable que la banque YAC était de bonne qualité et que, conformément aux engagements de Daniel Cohen, elle était effectivement mise à la disposition de la communauté. Pour la majeure partie des chercheurs français et étrangers (même aux États-Unis), elle se révéla d'un accès plus facile que celle du groupe de Hans Lehrach, assez comparable, ou que celle de Rakesh Anand, aux *inserts* nettement plus petits. Exploitée selon les modalités maintenant classiques du criblage PCR (diffusion de *pools* analysés par le laboratoire extérieur, les étapes finales étant effectuées ensuite au CEPH), elle joua un rôle déterminant, par exemple, dans le succès du groupe de Jean-Loup Mandel sur l'X fragile.

A Généthon même, la présence de Jean Weissenbach et son investissement méthodique dans la mise en place d'une sorte d'usine à isoler, séquencer et localiser des microsatellites témoignaient du sérieux de l'entreprise. L'important atelier de séquençage ainsi installé fut mis à profit pour identifier le gène impliqué dans le syndrome de Kallmann et, plus récemment, pour d'autres maladies génétiques. Simultanément, la batterie des Mark II rendait de grands services à plusieurs équipes en leur permettant d'effectuer rapidement les dizaines ou même centaines de *blots* indispensables à la localisation génétique de « leur » maladie : cas, par exemple, du groupe d'Arnold Munnich pour l'amyotrophie spinale. La banque de cellules implantée au Généthon engrangeait — non sans se heurter à quelques résistances de la part des cliniciens et des chercheurs, dont le sentiment de propriété est très

fort — les prélèvements sanguins nécessaires à l'étude de diverses maladies et en « immortalisait » une proportion notable sous forme de lignées lymphoblastoïdes. Le programme « Genexpress » de Charles Auffray semblait, lui, avoir plus de mal à démarrer, handicapé — entre autres — par les hésitations et les incohérences du CNRS ; quant au projet de cartographie physique mené par Daniel Cohen, homme orchestre et porte-parole parfois tonitruant, il restait entouré d'un certain mystère tant sur sa finalité réelle que sur son état d'avancement effectif.

La mise sur orbite

C'est à partir du printemps 1992 que le succès allait devenir évident. La construction d'une banque de « mégaYac » (non encore publiée), dont la taille moyenne dépasse la mégabase, fut très remarquée : ces clones constituaient manifestement des réactifs aptes à permettre la poursuite d'objectifs de cartographie audacieux. L'extraction réussie d'une banque spécifique du chromosome 21 [1], première mise en œuvre aboutie d'un schéma séduisant mais sur lequel d'autres s'étaient cassés les dents, fut rapidement suivie de l'obtention d'un *contig* de YAC couvrant la totalité de la région euchromatique de ce chromosome [2]. Au colloque de Cold Spring Harbor de mai 1992, ces résultats firent l'effet d'une bombe. Certes, le groupe américain de David Page [3] présentait une carte analogique pour le chromosome Y. Mais aucun des gros projets de cartographie de chromosomes menés dans divers centres du DOE et du NIH n'en était arrivé à ce stade, surtout pas le programme spécifique sur le 21 coordonné en principe par le *Lawrence Berkeley Genome Center*, anciennement dirigé par Charles Cantor. Signe de ce choc, la très officielle gazette *Human Genome News*, publiée conjointement par le DOE et le NIH, donne un compte rendu qui décrit en détail la carte physique du chromosome Y mais omet complètement celle du 21, mentionnant simplement la banque spécifique...

Le festival n'était pas terminé puisqu'en septembre devait paraître, dans la prestigieuse revue *Cell*, le pre-

mier article du groupe de Daniel Cohen décrivant son entreprise de cartographie générale du génome [4, 5]. Là non plus, pas d'innovation méthodologique fondamentale : c'est l'application aux YAC et à l'ensemble du génome humain de la technique des *fingerprints* mise au point par Alan Coulson et John Sulston [6]. Chaque YAC de la banque humaine totale est coupé par deux ou trois enzymes afin d'obtenir un jeu de fragments : après migration du mélange et *Southern blot*, ces derniers sont révélés par hybridation avec une sonde correspondant à une séquence répétée de type « L1 » ou « Alu ». Les « signatures » ainsi obtenues sont alors comparées deux à deux pour déterminer lesquelles comportent suffisamment de fragments communs pour suggérer que les YAC correspondants présentent un recouvrement. C'est en somme le procédé mis en œuvre dès la fin des années 1980 pour cartographier le chromosome 16 au *Genome Center* de Los Alamos par recouvrement de cosmides. La force du projet CEPH/Généthon a été de partir d'une banque YAC aux *inserts* de grande taille, de disposer de la batterie des Mark II pour effectuer rapidement de très nombreux *fingerprints* dans des conditions de reproductibilité excellentes, et de s'appuyer sur un service informatique capable d'assurer les calculs nécessaires, qui requièrent une puissance informatique considérable. L'opération a été organisée sur un mode industriel — pas de place, en effet, dans une telle entreprise, pour l'amateurisme — et les résultats présentés sont convaincants : les *contigs* obtenus à l'été 1992 couvrent, selon des calculs aux bases raisonnables, une bonne moitié du génome en morceaux de plus de deux mégabases, et les contrôles effectués sont rassurants sur la validité des recouvrements détectés. Tout laisse à penser que la poursuite de l'assemblage va aboutir, dans un bref délai, à la couverture de la quasi-totalité du génome (90 à 95 %) par des YAC organisés en *contigs* de grande taille, dépassant la dizaine de mégabases. Ce résultat présente une importance déterminante : la carte ainsi construite donnera un cadre de référence fiable

(incarné en des clones dont il faudra, d'ailleurs, organiser la diffusion) facilitant considérablement l'approche du gène de toute maladie génétique déjà « localisée » par l'analyse dans les familles. Elle permettra aussi de structurer et d'intégrer les diverses cartes partielles (génétique, cytogénétique, à base d'hybrides d'irradiation ou de gels pulsés...) obtenues dans de nombreux laboratoires et, par là même, de les rendre beaucoup plus opérationnelles.

Le palmarès ne s'arrête pas là puisque *Nature* publie fin octobre la carte génétique du groupe de Jean Weissenbach [7], fondée sur plus de 800 microsatellites hautement polymorphes. Elle constitue une carte de deuxième génération beaucoup plus cohérente que celle parue tout récemment dans *Science* [8], qui rassemble les données de nombreuses équipes et fait encore un large appel aux RFLP, souvent moins utiles pour les études dans des familles de malades en raison de leur polymorphisme moins accentué. Quant à « Genexpress », il a maintenant produit un nombre de séquences partielles tout à fait respectable dont deux mille ont été directement déposées dans les banques de données sans que la moindre demande de brevet ait été envisagée. C'est là sans doute la meilleure réponse qui pouvait être apportée aux tentatives de « protection » soutenues par le NIH ou, en tout cas, par sa puissante directrice Bernadette Healy.

Changement d'ambiance

Ces succès arrivent à un moment où le programme américain hésite un peu. La démission de James Watson lui a porté un coup sévère ; la controverse sur les brevets empoisonne l'atmosphère, et les successeurs présentés (on parle beaucoup de Francis Collins) semblent peu enclins à s'engager tant que la direction du NIH reste dans les mêmes mains (la récente élection présidentielle peut entraîner des changements à ces postes « sensibles »). La percée française pose aux responsables de délicats problèmes. Il est clair qu'une réorientation de certains programmes va s'imposer, et que quelques directeurs de *Genome Centers* doivent vivre des jours difficiles. La réussite du pro-

gramme européen de séquençage du chromosome III de la levure (même s'il a coûté très cher, sept ou huit Ecus la base, soit près de dix dollars) et sa poursuite sur d'autres chromosomes contribuent à cette morosité : vu de Washington ou de San Francisco, le seul projet sérieux dans ce secteur était américain, et c'est David Botstein qui devait le mettre en œuvre... La quatrième édition du colloque *Human Genome*, précédemment tenu à San Diego et qui avait lieu pour la première fois en Europe, fut le théâtre d'un véritable festival franco-européen. Il y avait fort peu d'Américains parmi les cinq cents congressistes, une cinquantaine tout au plus, une fois défilés les exposants commerciaux. Cela tient sans doute au fait que cette réunion est moins « pointue » que le colloque annuel de Cold Spring Harbor ; mais peut-être quelques « ténors » ne tenaient-ils pas trop à se trouver confrontés aux derniers résultats obtenus sur le Vieux Continent...

Un « coup » médiatique

La parution de l'article de *Cell* a été dans notre pays l'occasion d'un battage médiatique qui a indisposé certains. Il était pourtant légitime qu'un succès aussi remarquable soit souligné, logique aussi que l'AFM — qui, après tout, a financé la quasi-totalité de l'opération — informe le public sur l'emploi des fonds recueillis. Il y a eu, naturellement, quelques dérapages, facilités par l'emphase de certains propos et surtout par la grande ignorance de bien des « journalistes scientifiques » (j'ai reçu des appels de chroniqueurs qui confondaient carte génétique et carte physique et étaient persuadés que le professeur Cohen avait inventé les YAC et identifié tous les gènes humains...). Ces exagérations ne peuvent décemment être reprochées aux auteurs des travaux en question ; d'ailleurs des journaux comme *le Monde* ou même *Libération* ont, eux, rendu compte très correctement de l'événement.

Les raisons d'un succès

Cette réussite démontre qu'il faut savoir, à certaines phases, changer d'échelle et de méthode de travail. La

carte physique du « génome entier » sera obtenue grâce à une infrastructure technique et un environnement informatique qui n'existent, à ma connaissance, dans aucun autre laboratoire de biologie au monde. L'organisation très rigoureuse, quasiment industrielle, qui a été mise en place pour cette entreprise lui était indispensable. La dimension, absolument fondamentale pour la carte physique jouait un rôle moins essentiel pour les deux autres projets Généthon. La production de microsatellites aurait pu continuer selon le mode artisanal qui avait été celui de Jean Weissenbach au départ ; elle aurait peut-être été aussi efficace en termes de rapport financement/résultats. Mais elle n'aurait pas alors abouti au coup d'éclat d'une carte complète fondée exclusivement sur des marqueurs de haute qualité, incontestablement supérieure à la carte « NIH-CEPH » publiée quelques semaines auparavant [8]. Quant au séquençage de clones d'ADN mené par Charles Auffray, il aurait sans doute pu, lui aussi, être effectué à plus petite échelle sans perte flagrante d'efficacité. Mais dans le contexte du moment, marqué par l'hégémonie apparente du groupe de Craig Venter et l'affaire des brevets, il était important de manifester la présence d'autres équipes sur le front des ADNc. Au total, la dimension, strictement indispensable pour le premier projet, a renforcé l'impact des deux autres, tout en permettant probablement des économies d'échelle non négligeables.

Ce coup d'accélérateur brutal n'était concevable que dans le cadre très particulier de l'AFM et du CEPH, cofondateurs de Généthon (qui, tout comme eux, est une association loi de 1901). Le profil psychologique de leurs responsables respectifs a été déterminant. Leur mérite est d'avoir osé prendre de très gros risques, d'avoir cru à ce projet au point d'y jouer la crédibilité de leurs organisations respectives. Une fois décidé ce pari, qu'aucun comité d'experts (par nature prudent et conservateur) n'aurait tenté, la structure totalement privée a permis l'engagement très rapide des travaux, l'achat du matériel, le recrutement du personnel... le tout dans un délai de quelques mois.

Cette rapidité fait, à juste titre, l'envie des responsables œuvrant dans le cadre institutionnel de l'INSERM ou du CNRS : ceux-là, après avoir déposé presque deux ans à l'avance une demande de création d'une unité, auront vu leur demande agréée, parfois après avoir révisé leur copie et soumis une nouvelle proposition un an plus tard, puis auront longtemps attendu leur premier poste de technicien tout en cherchant à convaincre l'administration d'effectuer quelques travaux d'aménagement indispensables... Ils savent quelles déperditions d'énergie provoquent ces structures, par ailleurs si cartésiennes, et apprécient l'atout qu'a constitué le mode de fonctionnement de l'AFM en l'espèce. Mais il faut bien voir que les risques encourus, dans le cas du Généthon, étaient à la hauteur des moyens engagés... alors qu'ils sont bien minimes dans le secteur institutionnel. Quoi qu'il en soit, la percée opérée va avoir de nombreuses conséquences, parmi lesquelles, on peut l'espérer, une évolution des mentalités, qui n'a que trop tardé ■

Bertrand R. Jordan

Directeur de recherche au Cnrs, responsable du groupe de génétique moléculaire humaine. CIML, Inserm/Cnrs, case 906, 13288 Marseille Cedex 9, France.

RÉFÉRENCES

1. Chumakov IM, Le Gall I, Billault A, *et al.* Isolation of chromosome 21-specific yeast artificial chromosomes from a total human genome library. *Nature Genet* 1992 ; 1 : 222-5.
2. Chumakov I, Rigault P, Guillou S, *et al.* A continuum of overlapping clones spanning the entire human chromosome 21q. *Nature* 1992 ; 359 : 380-97.
3. Foote S, Vollrath D, Hilton A, Page DC. The human Y chromosome. Overlapping DNA clones spanning the euchromatic region. *Science* 1992 ; 258 : 50-66.
4. Bellanne-Chantelot C, Lacroix B, Ougen P, *et al.* Mapping the whole human genome by fingerprinting yeast artificial chromosomes. *Cell* 1992 ; 70 : 1059-67.
5. Cohen D. Premier lever d'une carte physique du génome humain. *médecine/sciences* 1992 ; 8 : 881-2.
6. Coulson A, Sulston J, Brenner S, *et al.* Toward a physical map of the genome of the nematode *Caenorhabditis elegans*. *Proc Natl Acad Sci USA* 1986 ; 83 : 7821-5.
7. Weissenbach J, Gyapay G, Dib C, *et al.* A second generation linkage map of the human genome based on highly informative microsatellite loci. *Nature* 1992 ; 359 : 794-801s.
8. NIH/CEPH collaborative mapping group. A comprehensive genetic linkage map of the human genome. *Science* 1992 ; 258 : 67-80.

TIRÉS A PART

B.R. Jordan