



par Bertrand JORDAN

Grande-Bretagne : un programme Génome à dimension humaine

La Grande-Bretagne, un terrain privilégié. La Grande-Bretagne bénéficie d'une forte tradition de génétique humaine. La qualité de ses chercheurs et cliniciens est connue ; son système de santé étatisé a considérablement facilité les travaux sur l'épidémiologie et, par ailleurs, ce pays est le berceau de la biologie moléculaire. C'est là en effet qu'a été mis au point le séquençage des protéines, qu'a été découverte la structure de l'ADN ; et les méthodes modernes d'étude des gènes et de leur régulation ont leur origine au Royaume-Uni au moins autant qu'aux USA. Les relations des Grands-Bretons avec leurs cousins d'outre-Atlantique sont intenses et privilégiées, mais — malgré un certain exode des cerveaux souvent déploré — n'ont pas abouti à une situation de type colonial : si beaucoup de chercheurs partent aux États-Unis, beaucoup aussi reviennent ensuite dans leur pays d'origine, et les liens établis sont à l'avantage des deux parties. En dépit d'un financement modeste, la recherche biologique britannique tire fort bien son épingle du jeu et présente indiscutablement un rapport qualité/prix excellent. Il est donc particulièrement indiqué d'examiner sa situation dans le domaine de la recherche sur le génome et de comparer ses réalisations à celles du programme développé aux USA.

Le Human Gene Mapping Project : modeste mais pragmatique. C'est au début de l'année 1989 que la

Grande-Bretagne a officiellement annoncé son programme Génome, intitulé *Human Genome Mapping Project* (HGMP). Un montant de 11 millions de livres (110 MF) était alloué pour trois ans au *Medical Research Council* (MRC) à cet effet ; cette période devant être suivie d'une augmentation annuelle de 45 MF au budget du MRC pour soutenir le même thème mais sans qu'il constitue un chapitre à part. Les priorités annoncées concernaient la cartographie génétique et physique de « régions génomiques intéressantes », le séquençage d'ADNc, les organismes modèles (souris et nématode) et les évolutions méthodologiques. Ce programme devait être mis en œuvre par la création d'un centre de ressources (*Resource Centre*) destiné à aider les équipes en gérant des collections de sondes, les librairies de YAC (*yeast artificial chromosomes*) et, d'autre part, par un ensemble de contrats aux laboratoires existants, le *Directed Programme of Research*.

Le programme avait été élaboré après des discussions serrées. Le MRC (incarné sur ce thème par Sydney Brenner) et le puissant *Imperial Cancer Research Fund*, dirigé par Walter Bodmer, et déjà bien impliqué dans les travaux sur le Génome, s'en étaient, semble-t-il, disputé le *leadership*. Quoi qu'il en soit, la question fut tranchée par le ministre de l'Éducation et de la Science qui confia cette entreprise au MRC ; Tony Vickers, un scientifique investi depuis plusieurs années dans l'administration de la recherche, en fut nommé direc-

teur et se consacra à sa mise en place. Les premiers contrats furent attribués dans le courant de l'année 1989, le *Resource Centre* commença à fonctionner en 1990, et le « petit journal » du programme britannique, appelé *G-String* puis *G-nome News*, en est déjà à son neuvième numéro. On souhaiterait que chez nous les déclarations ministérielles soient suivies d'effets aussi immédiats...

Le Resource Centre : une structure au service des laboratoires. C'est une des originalités du programme Génome britannique que de comporter un *Resource Centre*, un laboratoire central de service destiné à faciliter le travail des équipes : la finalité est analogue à celle du « Généthron » créé par l'Association Française contre les Myopathies, mais les installations sont nettement plus modestes. Ce centre, installé dans la banlieue ouest de Londres, regroupe une vingtaine de personnes et bénéficie d'un financement, salaires compris, d'environ un million de livres par an (10 MF) : sa taille et ses ressources sont donc comparables à celles d'un *Genome Center* aux USA, même si l'objectif est un peu différent. Ses cinq services s'occupent d'informatique, d'ADNc, de YAC, de sondes et amorces, et enfin de la cartographie du génome de la souris. Les prestations sont offertes gratuitement aux 550 usagers déjà inscrits, dont on attend essentiellement un retour d'informations. Le personnel est jeune ; le directeur pour la biologie, Ross Sibson, a travaillé quelques années dans l'industrie et en

particulier chez Amersham. Tony Vickers, qui dirige l'ensemble du programme britannique, suit de près les activités du Centre.

Le groupe d'informatique poursuit des buts multiples : formation des utilisateurs, mise en réseau de l'ensemble des moyens de calcul, connexion aux réseaux internationaux, et mise au point de logiciels spécialisés. Il est très orienté vers l'utilisateur, et l'on note une agréable absence de sectarisme au niveau des choix « politiques » : le responsable, F. Rysavy, souhaite par exemple offrir l'accès à Genatlas et considère que c'est le taux de consultation qui doit décider de l'avenir d'une base de données (plutôt qu'une décision bureaucratique *a priori*). Le groupe des ADNc s'est attaché au séquençage partiel d'un grand nombre de ces entités, selon la tactique de la « signature » (300 ou 400 bases de séquence fiable à 99 % sur chaque clone) popularisée aux USA par Craig Venter [1] mais proposée en fait par Sydney Brenner depuis plusieurs années. La première année de fonctionnement de ce service de taille modeste a vu le traitement de 6 000 clones qui ont fourni 1 500 séquences dont la moitié sont nouvelles (jusqu'à là inconnues). L'équipe des YAC offre un service de criblage pour la librairie de Saint-Louis ainsi que celle de Rakesh Anand (*ICI pharmaceuticals*)* [2] ; le service des « sondes et amorces » gère une collection de sondes et la fourniture (gratuite) d'amorces ; le Centre, enfin, est partenaire dans l'entreprise européenne de cartographie du génome de la souris par la méthode des croisements interspécifiques et doit, courant 1992, offrir un service de localisation de sondes par cette méthode.

En somme, le *Resource Centre* constitue une structure modeste, mais qui semble solide et surtout directement en prise avec les utilisateurs et leurs demandes. Il est dommage, peut-être, qu'elle ne se soit pas (pour le moment) plus impliquée dans des approches ambitieuses du type de celle développée par Hans Lehrach (*voir plus loin*) ; c'est sans doute la rançon de son souci de répondre aux demandes immédiates des équipes, sans leur imposer une stratégie *a priori*.

Un tissu de recherche dense et vivace. Il est difficile dans une chronique nécessairement brève de décrire une réalité aussi riche que celle de la recherche en Grande-Bretagne dans ce secteur ; les quelques cas évoqués ci-dessous le sont à titre d'exemple, pour montrer les spécificités de la génétique moléculaire dans ce pays.

Hans Lehrach (ICRF, Londres) et les librairies de référence. ICRF (*Imperial Cancer Research Fund*) est une fondation privée qui collecte des sommes considérables : environ 400 MF par an, plus donc que l'AFM ou l'ARC en France, et qui emploie environ 1 700 personnes dont un bon millier directement impliqué dans la recherche. Son laboratoire principal, installé *41 Lincoln's Inn Fields* à Londres, regroupe une cinquantaine d'équipes dont plusieurs sont concernées par le génome. Le groupe de Hans Lehrach est celui qui se rattache le plus à notre sujet. C'est un chercheur qui a beaucoup réfléchi aux stratégies expérimentales, en a évalué de façon aussi quantitative que possible les performances et la fiabilité, et a développé un ensemble de méthodes originales, très différentes de celles mises en œuvre ailleurs et en particulier aux USA. Il parie en effet sur les « librairies de référence » ; des banques d'ADN réalisées dans différents vecteurs (cosmides ou YAC), ordonnées ensuite en plaque à microtitration puis exploitées grâce à des filtres à haute densité contenant 10 000 ou 20 000 colonies disposées régulièrement à l'aide d'un robot. Des jeux de filtres identiques sont distribués aux laboratoires extérieurs qui peuvent les hybrider avec

les sondes de leur choix, repérer la (ou les) colonie(s) positive(s) et renvoyer l'information au laboratoire de Londres qui leur fournit alors les clones correspondants. Cette manière de procéder présente le double avantage de faire réaliser l'étape la plus délicate, l'hybridation, par le laboratoire extérieur (particulièrement motivé par l'obtention du clone), et de permettre une accumulation toute naturelle des informations au laboratoire central. Les données ainsi recueillies sont complétées par l'hybridation des mêmes filtres avec des sondes complexes (*pools* de clones, ADNc total...) ou peu spécifiques (oligonucléotides) de façon à récupérer le plus grand nombre de données possible par expérience [3]. Si l'on compare cette méthode à celle des STS (*sequence tagged sites*) généralement pratiquée aux USA, on ne peut qu'être frappé par ses attraits : la stratégie des librairies de référence remplace les STS par les clones de la librairie, beaucoup plus directement utilisables, tout en assurant une mise en mémoire naturelle des données obtenues au fur et à mesure ; elle est utile aux autres laboratoires tout au long de sa mise au point et non uniquement une fois qu'elle a abouti à une carte complète. L'approche est remarquablement efficace et sans faille — si toutes les expériences envisagées marchent réellement en routine. C'est un peu sur ce terrain que l'on attend Hans Lehrach, car les techniques employées sont délicates, et certains ne croient pas à leur fiabilité dans le cadre d'un emploi quotidien. Mais l'équipe a marqué plusieurs points importants ces derniers temps : par exemple la démonstration de la validité de la méthode de *fingerprinting* de toute une série de clones par hybridation en filtre à haute densité avec un jeu d'oligonucléotides [4]. Le groupe, une petite trentaine de personnes, effectue un travail considérable avec un financement total d'environ 7,5 MF par an : moins qu'un *Genome Center* aux USA, plus évidemment qu'une unité INSERM de cette taille en France..

Les cosmides à l'anglaise : les nématodes... On connaît l'histoire du nématode (*Caenorhabditis elegans*) sur laquelle Sydney Brenner s'est

* Cette banque semble toujours détenir le « ruban bleu » de la plus faible proportion de clones chimériques : moins de 5 %.

beaucoup penché par le passé. Ce n'est pas en principe notre tasse de thé puisque ces *Chroniques Génomiques* concernent essentiellement le génome humain... mais cet organisme dont le génome mesure environ 100 mégabases, soit une taille comparable à celle d'un chromosome humain moyen, constitue un remarquable banc d'essai pour les méthodes, et c'est à ce titre que nous en parlons. Alan Coulson et John Sulston se sont attelés depuis 1984 à l'établissement de sa carte physique complète ; ils n'ont pas choisi la facilité puisqu'au lieu de se contenter d'une carte de restriction, ils se sont engagés dans l'analyse systématique des recouvrements de cosmides afin d'établir un *contig* (série de cosmides contigus) couvrant entièrement le génome.

La carte physique est en fait pratiquement terminée [5]. L'assemblage des cosmides a été effectué par la méthode des *fingerprints*, mise au point par Sulston ; les « trous » inévitables ont été ensuite comblés par des YAC isolés d'une librairie construite par Bob Waterston (St-Louis, MO, USA). 17 000 cosmides au total ont été étudiés et leurs recouvrements analysés par un système informatique mis au point par Sulston. Les YAC, eux, ont servi de sonde pour la librairie de cosmides, et réciproquement, afin d'établir des ponts pour relier les *contigs*. Tout cela a été fait, pour l'essentiel, à la main : de l'artisanat donc, comparé aux ressources et au personnel des centres du DOE, mais un artisanat efficace, très bien organisé, et qui atteint ses objectifs...

Il faut dire que la communauté du nématode semble autrement plus coopérative que celle de la génétique humaine, et que les interactions dans les deux sens ont été nombreuses, confiantes et fréquentes. Le laboratoire se mobilise actuellement sur le début du séquençage du génome de *C. elegans*, avec des objectifs ambitieux mais réalistes : trois mégabases de séquence au centre du chromosome 3 (région riche en gènes) en trois ans, avec le groupe de Bob Waterston à Saint-Louis (MO, USA). Ce programme de mégaséquençage de deuxième génération paraît avoir de fortes chances de réussir, contrairement

à certaines tentatives précédentes [6].

... et le chromosome 11. Dans la même mouvance technique, mais en un lieu différent et, cette fois, sur du matériel humain, l'équipe de Peter Little (*Imperial College of Science, Technology and Medicine*, Londres) effectue une analyse systématique du bras court du chromosome 11. Les cosmides provenant d'une librairie réalisée à partir d'un hybride somatique sont analysés selon une procédure très semblable à celle de Coulson, mais quelques étapes sont réalisées de façon semi-automatique à l'aide de l'ubiquitaire robot Beckman Biomek. L'efficacité paraît comparable à celle des entreprises analogues menées aux USA à Lawrence Livermore (CA) et Los Alamos (NM) en ce qui concerne la détection des recouvrements et la croissance des *contigs* ; dans les deux cas, il est clair qu'il faut passer par les YAC pour achever la carte. Mais la modestie des moyens mis en œuvre ici est remarquable : trois ou quatre personnes et 1,5 MF par an ; une fois encore le rapport qualité/prix de la recherche britannique paraît excellent.

Edimbourg prépare l'après-gène.

Edimbourg, c'est (entre autres) une importante unité du MRC (*MRC Human Genetics Unit*), où l'on retrouve des noms connus : Nick Hastie, Howard Cooke, David Porteous, Robin Allshire... On se souvient peut-être aussi qu'ici travaillait Ed Southern (avant d'émigrer à Oxford), dans une équipe qui portait à la fin des années 1970 le nom de *Mammalian Genome Unit* : sans doute le premier laboratoire à comporter dans son titre le mot « Génome », qui a depuis fait fortune !

L'unité regroupe environ 200 personnes et son orientation générale fait une large part au modèle souris ainsi qu'au ciblage génique et généralement aux approches fonctionnelles ; mais elle reste branchée sur la clinique et est également tout à fait au point en ce qui concerne les techniques moléculaires les plus récentes. On y a développé, entre autres, des vecteurs de ciblage génique très per-

formants, une banque de YAC du chromosome 11, ainsi qu'une série de chromosomes X « raccourcis » par intégration d'un télomère dont on imagine sans peine l'utilité pour de nombreux laboratoires. L'unité comporte aussi un étonnant « conservatoire », le *MRC Human Genetic Registry* ; près de 5 000 personnes enregistrées, sur lesquelles plus de 1 000 médecins ou administratifs, fournissent annuellement des informations. Deux dames y tiennent (à la main et sur support papier) de grands arbres généalogiques regroupant parfois plus de cent personnes et comportant toutes sortes de détails sur chacune d'elles. C'est un outil de travail certainement inappréciable, géré avec un sens pratique tout britannique ; mais qu'en dirait chez nous la redoutable Commission Informatique et Libertés ?

Il s'agit là sans doute d'une des meilleures unités du MRC. Moins connue qu'un laboratoire comme celui d'ICRF à Londres, ou que le *Laboratory of Molecular Biology* de Cambridge, elle mérite l'attention ; n'oublions pas qu'à Edimbourg se trouve aussi Adrian Bird, revenu après quelques années très productives à l'*Institute of Molecular Pathology* de Vienne, et dont les travaux sur les îlots CpG font autorité...

Rule Britannia ! ? Règne sans partage, comme à la plus belle époque de l'Empire Britannique ? On peut du moins légitimement conclure que la Grande-Bretagne a fort bien réussi le démarrage de son programme Génome : malgré un budget de recherche modeste, dans des laboratoires souvent équipés de façon spartiate et où, visiblement, on fait attention au moindre microlitre d'enzyme, ce sont fréquemment des travaux excellents qui sont réalisés. Intelligence (la densité de penseurs au mètre carré est remarquable), pragmatisme, originalité (une caractéristique personnelle très prisée outre-Manche), ce cocktail s'avère d'une redoutable efficacité. Et cet exemple tout proche gagne à être médité : il est sans doute plus facile à transporter chez nous que les mastodontes du DOE, et aucune fatalité ne condamne

notre pays à rester — comme c'est le cas actuellement — nettement derrière nos collègues d'outre-Manche... ■

Bertrand 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. Adams MD, Kelley JM, Gocayne JD, *et al.* Complementary DNA sequencing : expressed sequence tags and Human Genome project. *Science* 1991 ; 252 : 1651-6.
2. Anand R, Riley JH, Butler R, *et al.* A 3.5 genome equivalent multi access YAC library : construction, characterisation, screening and storage. *Nucleic Acids Res* 1990 ; 18 : 1951-6.
3. Lehrach H. Hybridization fingerprinting in genome mapping and sequencing. Cold Spring Harbor Laboratory Press. *Genome Analysis* 1990 ; 1 : 39-81.
4. Craig AG, Nizetic D, Hoheisel JD, *et al.* Ordering of cosmid clones covering the herpes simplex virus type I (HSV-1) genome : a best case for fingerprinting by hybridisation. *Nucleic Acids Res* 1990 ; 18 : 2653-60.
5. Coulson A, Kozono Y, Lutterbach B, *et al.* YACs and the *C. elegans* genome. *BioEssays* 1991 ; 18 : 413-7.
6. Jordan BR. Les heurs et malheurs du séquençage à grande échelle. *médecine/sciences* 1991 ; 7 : 612-3.

TIRÉS A PART

B. Jordan.