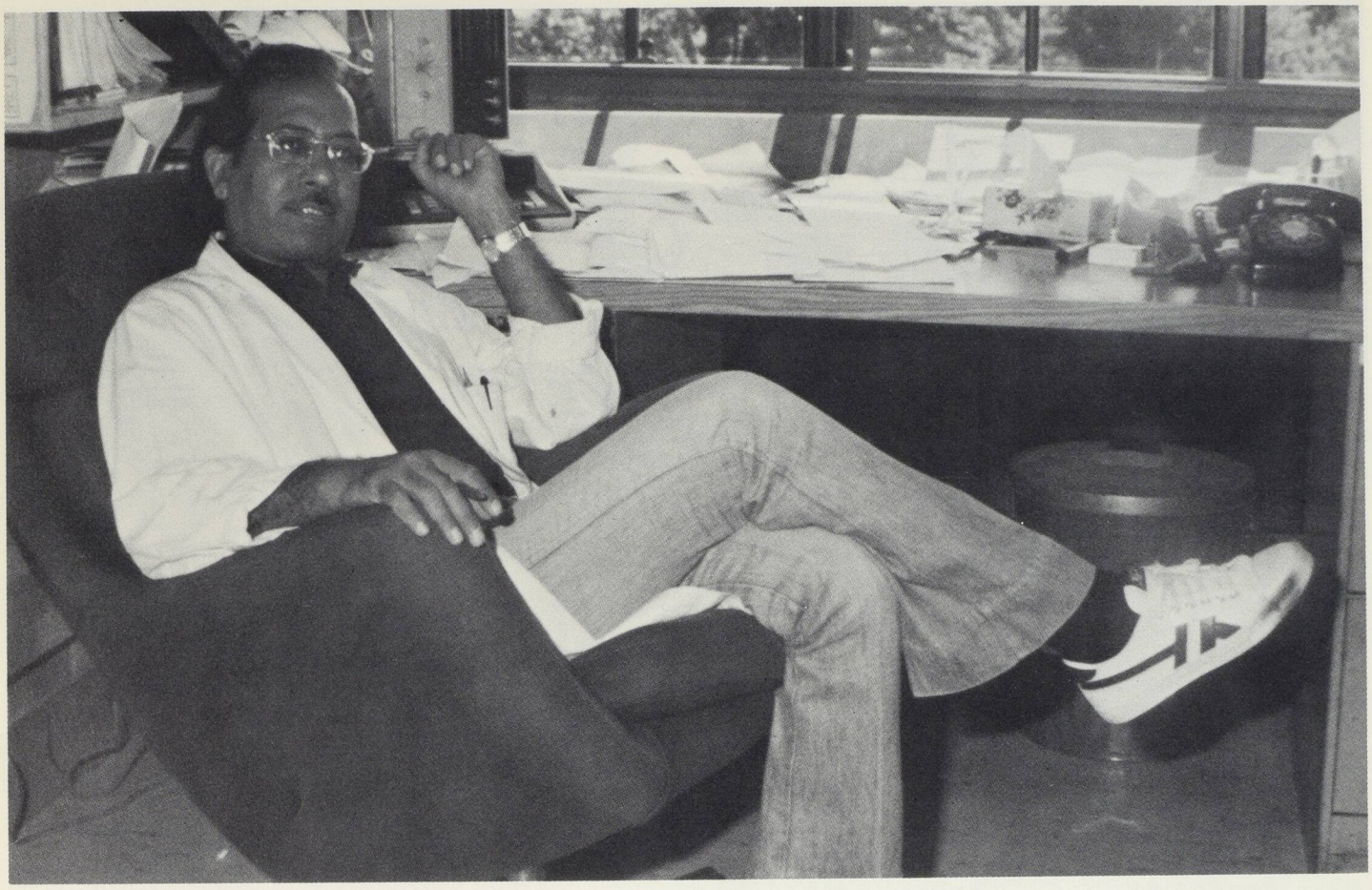

L'un des premiers objectifs du Dr Saran Narang était de synthétiser un gène de grande taille capable de s'exprimer comme un gène naturel.

nie, essayaient également de cloner le gène de la pro-insuline. Cependant, ils utilisaient pour cela un gène reconstitué à partir de l'ARN messager correspondant, prélevé sur une cellule vivante. Or, cette approche qui comportait l'extraction de matériel génétique suivie de l'insertion du gène dans un plasmide à l'aide d'enzymes engendrait des problèmes de tout ordre. (Voir encadré p.22).

Le gène codant pour la pro-insuline que les Drs Narang et Wu reconstituèrent éventuellement était compris dans une double hélice d'ADN, ou duplex d'ADN, de 258 bases. Pour obtenir le matériel nécessaire à la synthèse d'une aussi longue molécule, ils clonèrent les chaînes individuelles au moyen de plasmides. Ces premières expériences ont permis à l'équipe du Dr Wu d'acquérir une grande expérience sur le plan de la manipulation de ces véhicules et de l'exploitation des bactéries qui les contiennent. Mais au départ, ce domaine était si nouveau que presque tous les chercheurs ne pouvaient prétendre qu'au titre d'amateur.

"Nous avons d'abord cloné le gène qui codait pour la chaîne A", poursuit le Dr Narang. "C'était le plus court des trois. Avant de cloner un gène on doit s'assurer qu'il est compris entre deux triplets d'ADN: ATG et TGA. Ces triplets sont les signaux universels qui donnent à la machinerie de traduction bactérienne l'ordre de commencer ou d'arrêter la synthèse de la chaine d'acides aminés pour laquelle le gène code. À chaque extrémité de cet enchaînement il faut également attacher les cibles que les enzymes de restriction reconnaissent sur le plasmide."

Finalement, on réussit à obtenir des quantités suffisantes de gènes codant pour ces trois chaînes et le Dr Wu fut alors en mesure de réaliser leur liaison et de reconstituer le gène de la pro-insuline qui correspondait à la chaîne B-C-A. Avec ses signaux de départ et d'arrêt et ses régions cibles qui servent également de raccord, le gène atteignait une longueur totale de 277 bases, ce qui en faisait un des plus longs à avoir été synthétisés. Le Dr Wu et ses collègues l'insérèrent dans un plasmide qu'ils introduisirent par la suite dans *E. coli*. Il ne leur restait plus qu'à attendre pour voir l'aboutissement de trois années de travail se concrétiser.

Le Dr Narang se souvient de la tension qui régnait au laboratoire de l'Université Cornell lorsque les chercheurs essayaient de mettre en évidence des cultures d'*E. coli* capables de cloner le gène en question. "Finalement, une bactérie qui répondait à la tâche fut repérée. Même si les travaux du Dr Gilbert utilisant un gène naturel indiquaient que ceci était possible, nous ne pouvions nous en assurer avant de l'avoir nous-mêmes vérifié. De plus, nous avons démontré qu'*E. coli* traduisait également le gène en protéines, quoique le rendement obtenu ne fut pas trop élevé."

Le Dr Narang se renverse dans son fauteuil et savoure le souvenir de ses premiers succès. Il est vrai que le Dr Gilbert a été le premier à produire de la pro-insuline à l'aide de bactéries, mais il s'est servi pour cela d'un gène naturel alors que l'équipe de chercheurs d'Ottawa et de l'Université Cornell ont utilisé un gène entièrement reconstitué. D'autres laboratoires, notamment ceux de la compagnie pharmaceutique Eli Lilly, ont également réussi à synthétiser cette hormone, mais leur méthode qui est plus coûteuse consiste à produire les chaînes A et B séparément à l'aide de bactéries, puis à les joindre chimiquement. Cette compagnie a, par ailleurs, démontré clairement que l'insuline humaine produite par des bactéries s'avère efficace dans le traitement du diabète.

Bien que nombre de problèmes aient déjà été résolus, les scientifiques ont encore du chemin à faire avant que la production d'insuline synthétique atteigne