

De l'utilisation des chromosomes artificiels de plantes comme outil pour la conservation et l'exploitation des ressources génétiques végétales

Alexandre de Kochko

Fonds Documentaire IRD

Cote : Bx23007 Ex : 1

Le concept des ressources génétiques repose sur la notion fondamentale de sauvegarde du maximum de variabilité génétique qui existe au sein d'un genre, de toutes les espèces qui le constituent, et ce pour tous les genres du monde vivant.

Cette variabilité résulte de la présence ou de l'absence d'un très grand nombre de gènes. Pour les plantes, le nombre total de gènes est estimé entre 20 000 et 30 000 en fonction de la complexité (ou stade d'évolution) de la plante. Pour les animaux, ce nombre varie de 12 000-14 000 (nématode, drosophile) à environ 70 000-100 000 (homme) [1]. D'après de toutes dernières estimations, l'homme aurait même moins de 30 000 gènes, mais ce point reste à vérifier. Ces gènes existent sous plusieurs formes, ou allèles, ce qui multiplie d'autant la diversité à conserver. La variabilité génétique dépend aussi du mode de régulation de ces gènes. Les éléments régulateurs sont constitués par des produits codés par certains de ces gènes ou bien encore par des séquences d'acides nucléiques, dites non codantes. Ces dernières agissent soit comme telles (la simple succession des paires de bases est importante), soit *via* un complexe acides nucléiques-protéines donnant une configuration spatiale régulatrice de l'expression. Cet ensemble,

gènes et éléments régulateurs, fonctionne dans ce qui constitue le génotype. Finalement on peut schématiser et dire que conserver des ressources génétiques c'est conserver des gènes fonctionnels de manière aussi proche que possible de ce qui existe dans la nature.

Jusqu'à présent, la manière la plus efficace de conserver des gènes a été de le faire dans leur organisme d'origine. En ce qui concerne les plantes, trois moyens principaux sont utilisés :

– conserver des plantes vivantes soit en collections sur une station spécialisée, soit à la ferme (voir l'article de F. Lefèvre in *Cahiers Agricultures* 2000 ; 3 : 211-22). Ceci représente un processus lourd, coûteux et très exigeant en espace et en personnel, même lorsque l'on essaye de les réduire à un minimum d'individus censés représenter l'intégralité de la variabilité génétique (*core collections*) ;

– conserver des graines, c'est-à-dire la forme répliquative des plantes supérieures. Là aussi certains inconvénients existent : toutes les plantes ne font pas de graines et toutes les graines ne se conservent pas forcément bien. L'embryon peut ne pas supporter une trop forte déshydratation mais, encore et surtout, comme les graines résultent généralement du processus de la méiose, certains allèles peuvent être perdus ;

– conserver des tissus, des organes ou des cellules représentatives de la plante entière en utilisant les techniques empruntées à la culture de tissus. Cette approche nécessite un équipement sophistiqué. Elle demande une main-d'œuvre qualifiée relativement nombreuse et a des

coûts de fonctionnement élevés. Une alternative à la simple culture de tissus est de congeler, à de très basses températures, des tissus à partir desquels il sera possible de récupérer, après un processus de décongélation délicat, des plantes entières (cryoconservation, voir l'article de F. Engelmann et S. Dussert in *Cahiers Agricultures* 2000 ; 3 : 237). Ces tissus peuvent être des embryons, des germinations ou encore des cals embryogènes. Ces techniques ne sont pas universelles car elles demandent de disposer de la capacité de régénération et de la résistance au processus de cryoconservation. Il est de plus possible d'introduire, involontairement, des modifications au patrimoine génétique que l'on cherche à conserver au travers du phénomène de variation somaclonale lorsque l'on cryoconservait des tissus embryogéniques.

Avec les progrès accomplis dans le domaine de la biologie moléculaire et en anticipant sur les perfectionnements à venir, il est possible de concevoir de nouvelles formes de conservation et d'exploitation des ressources génétiques. Comme finalement il s'agit de conserver des gènes et leur mode de régulation, pourquoi ne pas appliquer la conservation au niveau primordial, celui des acides nucléiques, ou plutôt des chromosomes, support matériel de l'information génétique de tout organisme vivant ? De plus, en se plaçant à ce niveau, il est possible, tout en assurant la conservation du matériel génétique, d'en étudier les aspects fonctionnels (génomique fonctionnelle) et donc d'associer conservation et exploitation des ressources génétiques.

A. de Kochko : IRD, GeneTrop, 911, avenue Agropolis, BP 5045, 34032 Montpellier cedex, France.

Tirés à part : A. de Kochko

Fonds Documentaire IRD



010023007

La notion de chromosomes comme organites nucléaires supports matériels de l'hérédité date du début du XX^e siècle (1910) avec les travaux du généticien Thomas Morgan sur la drosophile (mouche du vinaigre). En collaboration avec Alfred Sturtevant, ils associent l'hérédité des mutations qu'ils analysent avec les configurations des chromosomes qu'ils observent au microscope dans des cellules métaphasiques, en particulier le chromosome sexuel X [2]. Des cytologistes avaient fait la même hypothèse quelques années auparavant, entre autres Sutton (1903) et Boveri (1904). À l'époque, Morgan s'opposa farouchement à cette théorie à laquelle il dut bien se convertir.

Tous les organismes vivants possèdent des chromosomes mais leur nombre, leur taille et leur agencement varient énormément. Ainsi les organismes les plus simples, comme les bactéries, n'ont qu'un seul chromosome de petite taille qui n'est pas enfermé dans un noyau. Par contraste, certaines espèces de fongères peuvent avoir plusieurs centaines de chromosomes enfermés dans un noyau. La taille du chromosome bactérien est d'environ 4,8 millions de paires de bases, alors que celle du génome du gui dépasse une centaine de milliards de paires de bases sur seulement 20 chromosomes [3]. Cette même diversité se retrouve chez les animaux dont la taille des génomes peut varier d'un facteur 100 (de la mouche à la salamandre), l'homme se situant vers le milieu avec un peu plus de trois milliards de paires de bases et 46 chromosomes (tableau).

L'idée de chromosome artificiel

Pour mieux comprendre l'organisation spatiale des gènes le long des chromosomes, leur fonctionnement et les relations qui peuvent exister entre agencement et expression, il est apparu nécessaire de travailler non seulement avec des fragments d'acide désoxyribonucléique (ADN) de plus en plus longs mais également de conserver leurs caractéristiques aussi fidèlement que possible. Il est souhaitable de conserver leur environnement fonctionnel qui consiste en différents éléments :

– autres gènes, situés non loin sur le

Tableau

Taille de quelques génomes en paires de bases

Espèces	Taille du génome en paire de bases (pb)
Phage Lambda (virus de bactéries)	4,9.10 ⁴
Bactérie, <i>Escherichia coli</i>	4,8.10 ⁶
Levure, <i>Saccharomyces cerevisiae</i>	1,4.10 ⁷
Nématode, <i>Caenorhabditis elegans</i>	8.10 ⁷
Mouche du vinaigre, <i>Drosophila melanogaster</i>	1,7.10 ⁸
Riz, <i>Oryza sativa</i>	7.10 ⁸
Souris, <i>Mus musculus</i>	3.10 ⁹
Homme, <i>Homo sapiens</i>	3,3.10 ⁹
Maïs, <i>Zea mays</i>	4.10 ⁹
Salamandre Genre <i>Ambystoma</i>	4.10 ¹⁰
Gui, <i>Viscum album</i>	1,3.10 ¹¹

Size in base pairs in some genomes

même chromosome ou plus loin, voire sur un chromosome différent ;

– structure de la chromatine qui les supporte et qui joue un rôle primordial dans la régulation de l'expression.

Dans ce dessein, des structures génétiques artificielles ont été réalisées. Elles ressemblent à de vrais chromosomes, contenant une importante quantité d'information, organisée de manière aussi proche que possible de l'état « naturel ». Elles sont maintenues dans un hôte étranger à l'information contenue sur ces structures. Lorsque l'hôte est une bactérie, en général *Escherichia coli*, on appellera ces structures des BAC, pour l'anglais *Bacterial Artificial Chromosome*. Les BAC peuvent contenir jusqu'à 300 mille paires de bases (300 kb, kilobases), ce qui représente au maximum 300 gènes de taille moyenne, en faisant abstraction de séquences intercalaires, non codantes, ce qui bien sûr n'est pas le cas sur les chromosomes « natifs ». De plus, si les BAC peuvent se multiplier, c'est-à-dire se maintenir dans les bactéries lors de leur division, il n'en est pas de même pour l'expression des gènes qu'ils contiennent. En effet, les bactéries sont des procaryotes, qui ne possèdent pas les systèmes nécessaires à la régulation de l'expression de nombreux gènes d'eucaryotes, organisés différemment de ceux des procaryotes. En particulier, ils possèdent des introns (séquences dites non codantes) au sein de nombreux gènes qui séparent les exons (séquences codantes). Les gènes bactériens n'ont pas d'introns et les bactéries ne sont pas

capables d'exciser, sur l'ARN (acide ribonucléique) prémessager, les séquences correspondant aux introns d'un gène mosaïque d'eucaryote pour reconstituer l'information linéaire portée par les exons.

Des structures plus compliquées, les YAC ou *Yeast Artificial Chromosome* (chromosomes artificiels de levure) ont alors été élaborées (figure 1). Les YAC peuvent être beaucoup plus longs que les BAC, environ 1 million de paires de bases (1 Mb, mégabase) ; leur organisme hôte est la levure (*Saccharomyces cerevisiae*), organisme eucaryote assez simple capable d'assurer certaines fonctions dont les bactéries sont dépourvues, mais pas toutes. Le principal inconvénient des YAC, à l'heure actuelle, est leur instabilité. Des progrès sont donc encore à faire dans ce domaine mais cet inconvénient momentané ne met pas la technique en cause. Les YAC sont un outil de base dans le programme de séquençage du génome humain, mais également dans l'identification de gènes et dans la compréhension de certains aspects de leur régulation.

Plus récemment, de petits chromosomes artificiels de mammifères et d'humains, capables de se répliquer, ont été construits [4-9]. Ils sont transmis de cellule mère à cellule fille et permettent l'expression des gènes qu'ils contiennent. En ce qui concerne l'homme, l'hôte de ces chromosomes est une cellule humaine en culture. La principale utilité que l'on prête à ce nouveau type de chromosomes artificiels, ou HAC (*Human Artificial Chromosomes*), est la thérapie

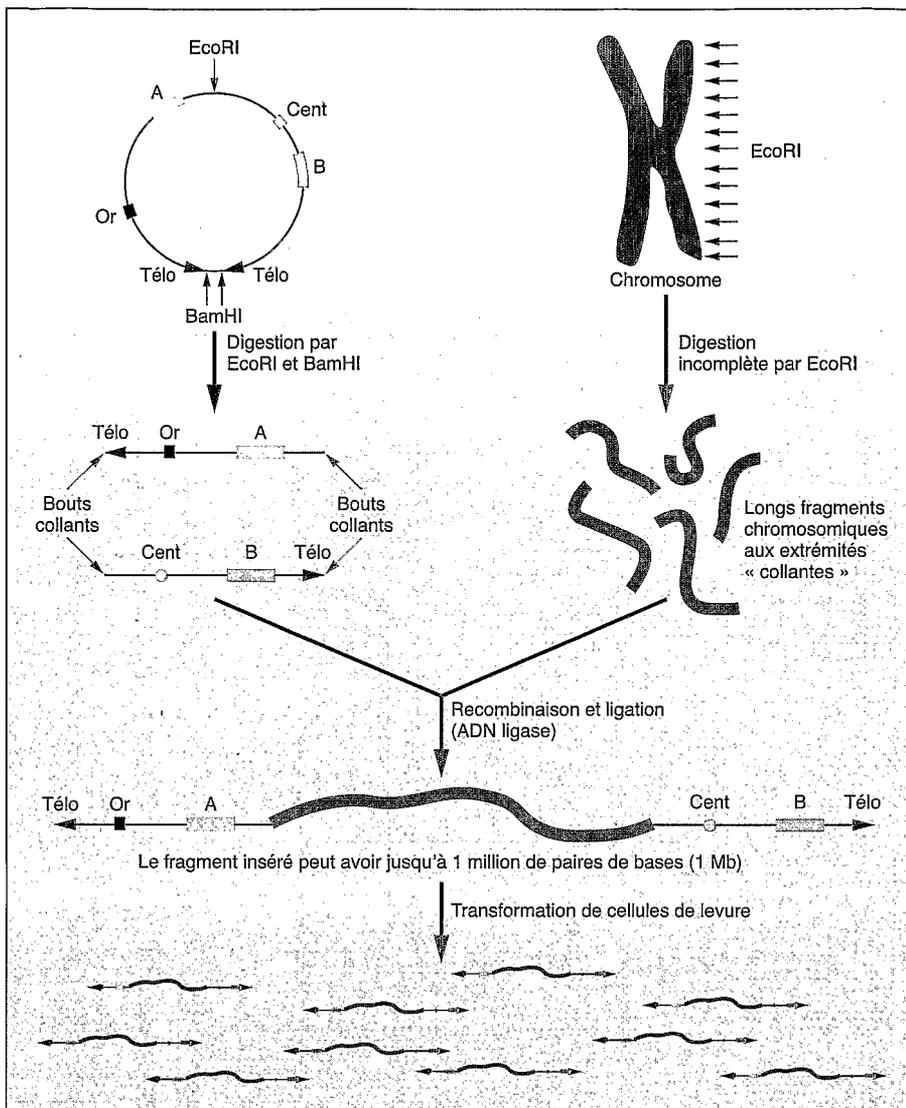


Figure 1. Technique du clonage dans un YAC, chromosome artificiel de levure.
Télo : Télomère. Séquences répétées situées aux extrémités des chromosomes linéaires. Elles assurent leur stabilité et leur protection contre l'action des nucléases.
Cent : Centromère. Constitué de séquences répétées et de protéines associées. Elles assurent l'attachement du chromosome sur le faisceau mitotique et la migration du chromosome dupliqué dans les cellules filles.
Or : Origine de réplication. Séquence particulière et spécifique, reconnue par la machinerie de duplication de l'ADN permettant la synthèse de nouveaux brins d'ADN.
A et B : Marqueurs de sélection qui permettent le repérage des cellules de levures ayant intégré le chromosome artificiel.
EcoRI et BamHI : sites spécifiques de reconnaissance pour ces enzymes de restriction.

Figure 1. Cloning in a YAC, yeast artificial chromosome.

génique. Cette technique consistera à placer sur ces chromosomes la forme active d'un ou de plusieurs gènes déficitaires chez un malade. Après introduction dans des cellules en culture de ce même malade, on réimplantera ces cellules « transformées » dans l'organisme du malade. Ceci permettra de ne plus utiliser des vecteurs viraux comme c'est le cas actuellement [5-10].

Bien entendu, par analogie avec les chromosomes artificiels déjà existants pour d'autres organismes, les chercheurs végétalistes ont aussi dans l'idée de réaliser ce type de matériel pour les plantes. De même que pour les BAC, YAC et autres HAC, on pense sérieusement pouvoir réaliser des PAC, *Plant Artificial Chromosomes* [11], en vue de leur utilisation pour les études de génomique végétale

qui connaissent un développement considérable. Il serait aussi d'un grand intérêt de pouvoir utiliser cet outil pour la conservation et l'utilisation des ressources génétiques dont certains aspects contraignants, évoqués dans l'introduction de cet article, pourraient être évités.

Que faut-il pour faire un chromosome artificiel ?

Pour constituer un chromosome artificiel on doit y inclure tous les éléments qui se trouvent sur un chromosome ordinaire. En d'autres termes, outre les gènes et les séquences que l'on veut conserver ou analyser et les marqueurs qui serviront à l'identification du chromosome synthétique, il faut y inclure des éléments indispensables à sa stabilité, à sa duplication et à sa transmission lors des divisions cellulaires (figure 2). Ces différents éléments sont :

- des séquences répétées télomériques, situées aux extrémités des chromosomes et qui assurent la stabilité de l'ensemble et le protègent de l'action destructrice des nucléases [12-14] ;
 - des origines de réplication, séquences spécifiques de nucléotides reconnues par les enzymes responsables de la synthèse de nouveaux brins d'ADN, qui permettent au chromosome d'être dupliqué avant la division cellulaire. Ces origines de réplication doivent être reconnues par l'organisme hôte dont l'équipement enzymatique assurera la duplication du chromosome [15, 16] ;
 - des séquences répétées centromériques dont l'agencement et la structure tertiaire constituent le centromère qui assure l'attachement du chromosome sur le faisceau mitotique et sa migration vers les futurs noyaux de cellules filles. Là aussi il faut que le centromère artificiel soit reconnu par la cellule hôte afin que la migration du chromosome dupliqué se fasse correctement et qu'il ne soit pas perdu au cours des mitoses [4, 17, 18].
- Une fois ces éléments assemblés en un chromosome artificiel, celui-ci est introduit dans des cellules hôtes et l'on observe de temps en temps certaines d'entre elles ayant retenu un chromosome sur-numéraire. Pour l'instant, seuls ont été fabriqués des chromosomes artificiels de petite taille en comparaison avec les

chromosomes « normaux » (10 Mb au maximum pour des chromosomes artificiels de mammifères).

La ploïdie constitue une difficulté supplémentaire pour l'élaboration des chromosomes artificiels de mammifères ou de plantes. Par opposition aux bactéries qui n'ont qu'un seul chromosome ou aux levures qui peuvent exister et se multiplier végétativement aussi bien au niveau diploïde qu'haploïde, ces organismes sont au moins diploïdes. Pour les organismes plus évolués, il faut soit rendre la cellule hôte haploïde, soit dupliquer le chromosome introduit, d'une manière ou d'une autre, afin de lui fournir son complément. Il faut aussi veiller à ce que le chromosome artificiel introduit ne soit pas éliminé par la cellule hôte, principalement pendant les mitoses, et que son introduction n'induit de changements drastiques rendant la manipulation et la conservation de l'organisme hôte trop délicates.

Une question cruciale devra aussi être résolue : celle de l'organisme hôte des PAC, dont la nature pourra varier en fonction de l'application recherchée. S'il s'agit purement de conservation et d'utilisation des gènes conservés, un hôte qui permet seulement la conservation de manière stable pourrait être suffisant. Dans ce cas, des algues unicellulaires du type *Chlorella vulgaris*, dont les chromosomes sont relativement petits, donc plus faciles à manipuler, pourraient faire l'affaire. Dans cette hypothèse, il faudrait construire des chromosomes chimériques, sur le modèle des YAC. Les séquences à conserver seront mêlées aux séquences permettant le maintien dans l'hôte, principalement les séquences répétées centromériques et les origines de réplication spécifiques de l'hôte.

Si l'on veut étudier la fonction des gènes et leur régulation, un hôte permettant l'expression est nécessaire. Dans ce cas, il pourrait s'agir soit de cellules en culture, originaires de la même plante que celle dont proviennent les chromosomes artificiels (on y introduirait un seul chromosome surnuméraire par lignée de cellules en culture), soit de plantes régénérées possédant un chromosome additionnel. De telles cellules ou plantes ont toutes les chances d'être viables, les lignées d'addition, avec une ploïdie de $n + 1$, étant un matériel utilisé depuis fort longtemps par les généticiens des plantes.

Summary

Artificial plant chromosomes provide a tool for genetic resource conservation and use

A. de Kochko

Many different genetic resource conservation strategies are available but none of them are universal. They often require complex installations, with high equipment and labour costs. Considering genetic resources at the molecular level, in association with biocomputing and small germplasm collections, now appears to be a reasonable future strategy. Improvement of plant biotechnology techniques has enabled manipulation of large DNA molecules. As a result of the success of yeast artificial chromosomes (YAC), mammalian artificial chromosomes were recently constructed, and should lead to the future construction of plant artificial chromosomes (PAC).

Three basic prerequisites are necessary to establish a mitotically stable structure:

1. Origins of replication for chromosome duplication.
2. A centromere to allow the division and migration along the microtubules of duplicated chromosomes into daughter cells.
3. Telomeres at the ends that confer stability.

These elements must be of plant origin and mixed with plant chromosomal DNA (from as many plant species as possible) that should in turn be studied and conserved.

PAC will be useful to better understand the regulation of gene expression and provide a suitable alternative for genetic resource conservation and use. PAC make it possible to conserve information carried by genes, while regulating their expression, since these structures are established in a similar manner as chromosomes. Data on protein structure and function could also be produced using techniques such as X-ray diffraction and magnetic nuclear resonance. If necessary, it will be possible to recreate any allele using all pooled information. Legal and ethic questions will also arise and should be answered.

Cahiers Agricultures 2000 ; 9 : 287-92.

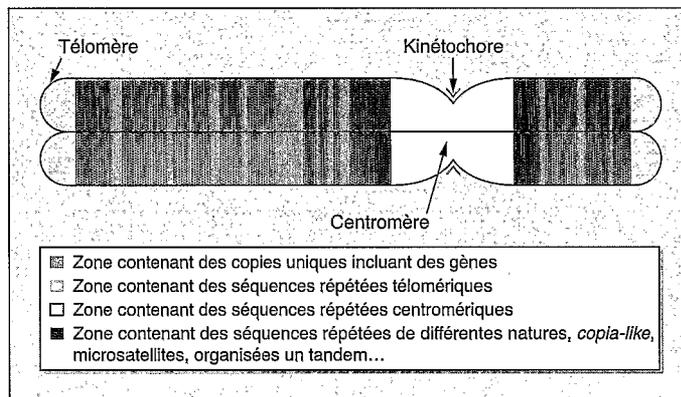


Figure 2. Représentation schématique d'un chromosome de plante en métaphase.

Figure 2. Schematic representation of a plant chromosome in metaphase.

Que peut-on faire avec des chromosomes artificiels ?

L'énorme avantage de pouvoir disposer d'un tel matériel serait la possibilité de le

manipuler sans avoir à perturber l'organisme dont l'information contenue sur ces chromosomes est originaire. En dehors de l'utilité des chromosomes artificiels en thérapie génique, ils sont un outil de choix pour affiner les travaux de séquençage systématique des génomes. Ils permettent (ou permettront) d'analyser l'importance de l'agencement de l'information génétique le long des chro-

mosomes non seulement pour mieux comprendre le rôle de la disposition respective des gènes, mais aussi la présence et l'importance des séquences intergéniques. En conséquence, ils pourront être utilisés pour mieux cerner les différents facteurs impliqués dans la régulation de l'expression des gènes.

À beaucoup plus long terme, au vu de l'importance toujours croissante des informations disponibles dans les bases de données et en association avec les outils de plus en plus performants de la biologie moléculaire, il sera sans doute possible d'utiliser ces chromosomes artificiels comme support des ressources génétiques de demain. Dans cette hypothèse, il ne serait plus nécessaire de conserver de grandes banques de matériel vivant, sous quelque forme que ce soit, organisme entier ou simple cellule en culture, mais des banques de chromosomes artificiels qui ne seraient pas nécessairement clonés dans des hôtes génétiquement proches de l'organisme de départ, cette étape ne devenant utile que pour vérifier la validité de l'information portée.

De plus, la possibilité de manipuler les acides nucléiques et les protéines qui leur sont associées (histones...) permettra de modifier une séquence ou un agencement en fonction du résultat escompté. Il est déjà possible de modifier très précisément un polypeptide donné en ajoutant, enlevant ou substituant un ou des acides aminés qui le composent. Les apports de la bio-informatique permettent d'anticiper sur les conséquences de cette modification : changement de charge, de structure, de site actif, de site de reconnaissance ou encore de site de modification post-traductionnelle. Cette possibilité d'intervention permettra de conserver des formes alléliques de base et de recréer celles qui seraient devenues nécessaires, voire d'en faire de nouvelles. Il deviendra aussi possible de modifier la nature et la longueur des séquences intergéniques, séquences qui interviennent dans les phénomènes de spéciation. On peut aussi imaginer qu'avec les possibilités de « chirurgie chromosomique » pour l'instant balbutiantes [19], il sera possible d'aller au-delà de la simple utilisation des chromosomes artificiels dans leur intégralité en les introduisant dans l'organisme que l'on veut modifier. On peut envisager d'intervenir très précisément sur les génomes et de substituer une information précise par une autre dont on aura identifié non seulement la

nature mais aussi la localisation et le mode de régulation.

Autrement dit, les chromosomes artificiels deviendront sans aucun doute un outil nécessaire et puissant pour la compréhension des différences entre espèces, genres, etc. Ils pourront aussi constituer des banques à partir desquelles une ou des informations pourront être prélevées, éventuellement adaptées, et introduites dans l'organisme que l'on voudra modifier pour obtenir un génotype dont on aura toutes les caractéristiques conservées dans une banque de données. De cette manière, une espèce disparue, si l'on dispose suffisamment d'informations la concernant, pourrait, à la limite, être en quelque sorte reconstituée, « ressuscitée » ? Cependant, il faudrait pour réaliser ce projet disposer non seulement de la séquence intégrale de son génome mais aussi (et surtout) connaître la configuration structurelle fine des chromosomes de cette espèce disparue et tous les mécanismes de régulation de son expression génique. On pourra alors envisager la suppression des grandes banques vivantes des espèces se trouvant dans cette situation, en ayant la possibilité de les reconstituer. Il faudra cependant toujours disposer d'une banque vivante minimale qui constituera le matériel de travail pour les différentes approches décrites précédemment. Il va sans dire également que l'on ne pourra pas reconstituer des espèces ayant disparu avant que toutes leurs caractéristiques soient répertoriées. « Jurassic Park » n'est pas pour demain.

Conclusion

L'accélération exponentielle des possibilités de séquençage (de quelques bases par semaine il y a 25 ans à plusieurs millions par jour maintenant), l'amélioration continue des techniques d'analyse de l'expression (voir l'article de P. Lagoda), et d'analyses structurales (diffraction aux rayons X, résonance magnétique nucléaire...) qui permettent de visualiser des structures biochimiques actives, la possibilité de manipuler, sans les détruire, des fragments d'acides nucléiques de plus en plus grands, allant jusqu'aux chromosomes entiers, laissent déjà prévoir ce qu'il sera possible de réaliser demain. Par ailleurs, de nouvelles techniques, dont on perçoit seulement de nos jours la faisabilité, augmenteront d'autant les possibilités d'intervention et d'utilisation de ce

genre d'outils moléculaires. Ces développements technologiques donneront aux chercheurs encore plus de possibilité de manipuler le matériel génétique de n'importe quel organisme et leur permettront d'optimiser chaque fois un peu plus la gestion de la diversité sans pour autant signifier la disparition des concepts de gestion du vivant car la finalité est, et restera, de disposer d'une variabilité vivante et utilisable.

Il est compréhensible que de telles ouvertures puissent effrayer plus d'un lecteur. En effet, lorsque l'on évoque le domaine délicat de la manipulation de l'information génétique, de nombreuses questions d'éthique se posent. Avec les progrès technologiques prévisibles, ces questions deviendront encore plus nombreuses et essentielles. Il sera, bien entendu, crucial que tous les chercheurs concernés soient de plus en plus sensibilisés. Conscients de la nature et des implications de leurs travaux, ils devront savoir jusqu'où aller ou ne pas aller. Parallèlement, l'appareil législatif devra nécessairement définir rapidement les limites légales à l'application de certaines technologies, tout comme certaines nations se demandent dès maintenant s'il n'est pas raisonnable d'interdire le clonage humain ■

Références

1. Yaniv M, Sentenac A. Fonction des gènes dans leur environnement physiologique. In : *Développement et application de la génomique*, RST n° 1, 1999, Académie des Sciences. Paris : Editions Tec & Doc ; 231 p.
2. Morgan TH. Sex limited inheritance in *Drosophila*. *Science* 1910 ; 32 : 120.
3. Bennett MD, Leitch IJ. Nuclear DNA amounts in Angiosperms. *Ann Bot* 1995 ; 76 : 113-76.
4. Masumoto H, Ikeno M, Nakano M, et al. Assay of centromere function using a human artificial chromosome. *Chromosoma* 1998 ; 107 : 406-16.
5. Vos JMH. Mammalian artificial chromosomes as tools for gene therapy. *Cur Opin Genet Dev* 1998 ; 8 : 351-9.
6. Willard HF. Human artificial chromosomes coming into focus. *Nat Biotech* 1998 ; 16 : 415-6.
7. Dejong G, Telenius AH, Telenius H, et al. Mammalian artificial chromosome pilot production facility : large-scale isolation of functional satellite DNA-based artificial chromosomes. *Cytometry* 1999 ; 35 : 129-33.
8. Henning KA, Novotny EA, Compton ST, et al. Human artificial chromosomes generated by modification of a yeast artificial chromosome containing both human alpha satellite and single-copy DNA sequences *Proc Natl Acad Sci USA* 1999 ; 96 : 592-7.

9. Ikeno M, Grimes B, Okazaki T, *et al.* Construction of YAC-based mammalian artificial chromosomes. *Nat Biotech* 1998 ; 16 : 431-9.
10. Schlessinger D, Nagaraja R. Impact and implications of yeast and human artificial chromosomes. *Ann Med* 1998 ; 30 : 186-91.
11. Yamada T. Molecular characterization of the structural elements of Chlorella chromosomes. Modeling of plant artificial chromosomes. Seibutsu-Kogaku Kaishi. *J of the Society for Fermentation and Bioengineering* 1998 ; 76 : 205-16.
12. Kurenova EV, Mason JM. Telomere functions : a review. *Biochemistry (Moscow)* 1997 ; 62 : 1242-53.
13. Muniyappa K, Kironmai KM. Telomere structure, replication and length maintenance. *Crit Rev Biochem Mol Biol* 1998 ; 33 : 297-336.
14. Slijepcevic P. Telomere length and telomere-centromere relationships ? *Mutat Res* 1998 ; 404 : 215-20.
15. Ogawa Y, Okazaki T, Masukata H. Association of autonomous replication activity with replication origins in a human chromosome. *Exp Cell Res* 1998 ; 243 : 50-8.
16. Stillman B. Mechanism and regulation of chromosome replication. 90th Annual Meeting of the American Association for Cancer Research Philadelphia, Pennsylvania, USA April 10-14, 1999.
17. Schindelbauer D. Construction of mammalian artificial chromosomes: prospects for defining an optimal centromere. *Bioessays* 1999 ; 21 : 76-83.
18. Willard HF. Centromeres: the missing link in the development of human artificial chromosomes. *Curr Opin Genet Dev* 1998 ; 8 : 219-25.
19. Liu Y-G, Shirano Y, Fukaki H, *et al.* Complementation of plant mutants with large genomic DNA fragments by a transformation-competent artificial chromosome vector accelerates positional cloning. *Proc Natl Acad Sci USA* 1999 ; 96 : 6535-40.

Résumé

Avec le développement des connaissances en biologie moléculaire et en génomique fonctionnelle et le perfectionnement continu des technologies employées, il apparaît possible de concevoir de nouvelles approches pour résoudre certains des problèmes qui se posent à la conservation et l'exploitation des ressources génétiques végétales, comme la place nécessaire, le choix de la procédure en fonction de la plante et le coût. La possibilité d'utiliser des structures telles que des chromosomes artificiels de plante (PAC), similaires dans leur conception aux chromosomes artificiels de levure (YAC) et contenant toute l'information nécessaire tant du point de vue des gènes eux-mêmes que de leur contrôle, pourrait être une de ces approches du futur.
