

Aperçus historique de la culture in vitro

1-1 La multiplication *in vitro* à l'origine de nombreuses productions végétales

Dans les années 50, des chercheurs de l'Inra ont montré que la culture de méristèmes permet d'obtenir des plantes entières (travaux de Pierre Limasset, Pierre Cornuet, Georges Morel et Claude Martin). Cette technique a été appliquée à de nombreuses espèces à multiplication végétative ornementales (dahlia, orchidée...), maraîchères (pomme de terre...), fruitières (framboisier...) dont le développement était très affecté par les maladies virales.

Dans les années 80, de la culture de méristèmes, les chercheurs sont passés à la culture de microboutures, beaucoup plus rapide. C'est ainsi qu'est née la multiplication végétative *in vitro*, en France, à l'Inra. Depuis 1988, plus de 450 espèces peuvent être ainsi micro-propagées. L'une de ses dernières retombées, la greffe-bouture herbacée, mise au point sur la vigne et brevetée en 1986 (brevet Inra-Mumm Perrier-Jouët) est en cours d'application à diverses espèces fruitières (dont les agrumes), et ornementales (dont le mimosa et le rosier).

Aujourd'hui encore, la culture de méristèmes est la seule technique qui permet de maintenir des productions saines de canne à sucre, de manioc, d'igname ou de bananier dans les zones tropicales particulièrement sensibles aux épidémies.

1-2 Une découverte historique basée sur la fusion de protoplastes

En 1994 à l'Inra, la naissance de la première variété hybride : La production d'hybrides permet d'obtenir des plantes plus productives pour de nombreux usages. Grâce à une innovation majeure : par introduction dans le colza d'un gène d'intérêt présent chez le radis. Le transfert de ce caractère d'origine cytoplasmique s'est fait grâce à la technique de fusion de protoplastes. Plus récemment, les chercheurs de l'Inra ont isolé un autre gène, qui restaure la fertilité. Le croisement d'une lignée mâle stérile transgénique et d'une lignée restauratrice de fertilité permet d'obtenir des hybrides fertiles, qui donnent des graines, donc de l'huile.

1-3 Un transfert réussi du labo à l'industrie : les « plantes à traire »

En 2005, des chercheurs de l'Inra ont mis au point une technologie innovante de culture hors-sol, à mi-chemin entre la culture *in vitro* en réacteur et le champ. Elle repose sur la propriété de certaines plantes de sécréter des molécules d'intérêt par les racines. Les plantes sont cultivées en serre, dans des pots qui laissent sortir les racines et qui sont placés au-dessus d'un liquide nutritif : ainsi nourries, les racines, font plusieurs cycles de production successifs, permettant d'obtenir entre trois et huit récoltes par an sur une même plante de manière non destructive, d'où le nom de « plantes à traire ». Exemples de substances produites : alcaloïdes tropaniques d'intérêt pharmaceutique (hyoscyamine et scopolamine, neurosédatifs), taxol, furocoumarines, utilisées dans le traitement du psoriasis et de certains cancers, shikonine (colorant cosmétique).

2- La totipotence cellulaire

Une cellule est dite totipotente quand elle a la capacité de se différencier en n'importe quelle cellule spécialisée et de se structurer en formant un organisme pluricellulaire.

2-1 la totipotence des cellules végétales

En effet, les cellules végétales, prélevées sur un organe quelconque d'une plante, possèdent la capacité de régénérer un individu complet identique à la plante mère. C'est la totipotence des cellules végétales. Elle repose sur l'aptitude à la dédifférenciation: les cellules peuvent redevenir des cellules simples, non spécialisées et se différencier ensuite pour donner à nouveau les différents types de cellules spécialisées. Grâce à la totipotence, l'arbre et d'autres plantes, mis en milieu stérile, sont techniquement immortels.

2-2 La totipotence des cellules animales

La totipotence cellulaire est propre à tous les végétaux, mais aussi à un animal, le corail. Les seules cellules totipotentes chez les animaux sont les cellules embryonnaires, plus particulièrement les quatre premières cellules divisées après fécondation. C'est pour cela que la naissance de jumeaux est possible. Ce sont deux individus qui sont issus de la même cellule, la cellule mère

3- La culture *in vitro* et son utilisation

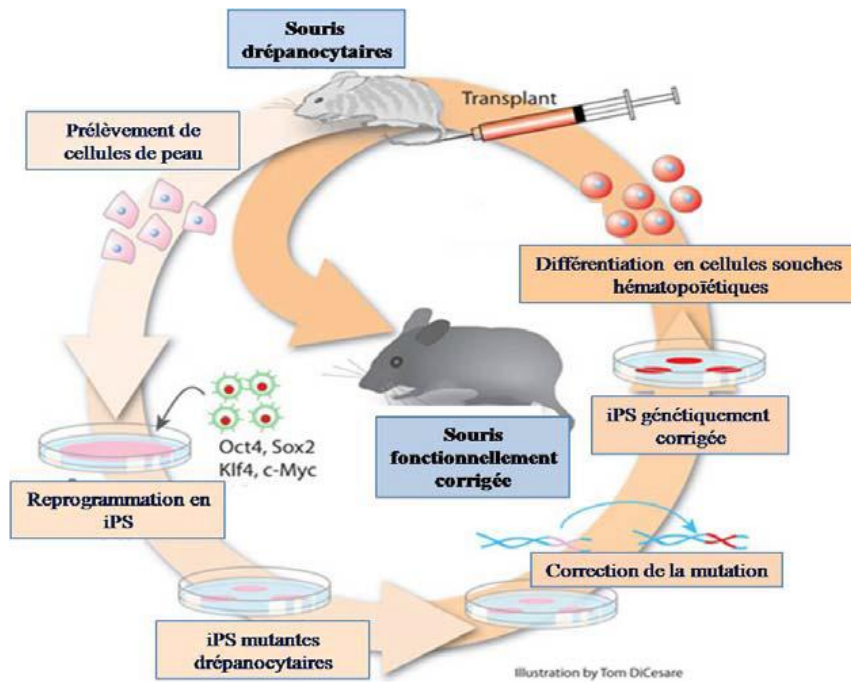
3-1 Utilisation thérapeutique

Les cellules pluripotentes (hES ou hiPS) de part leurs propriétés représentent une source biologique alternative prometteuse pour la thérapie cellulaire. Les principales études cliniques actuellement en cours sont présentées dans le **tableau** ci-dessous

PHÉNOTYPE DES CELLULES THÉRAPEUTIQUES	MALADIE	PAYS
Précurseurs des cellules <i>beta</i> du pancréas (insuline)	Diabète (cellules encapsulées)	États-Unis
Précurseurs d'oligodendrocytes	Traumatisme de la moelle Epinière	États-Unis
Précurseurs de l'épithélium pigmentaire de la rétine	Dégénérescence maculaire liée à l'âge	États-Unis et Royaume-Uni
Précurseurs de cardiomyocytes	Insuffisance cardiaque Ischémique	France
Précurseurs de l'épithélium pigmentaire de la rétine	<i>Stargardt's macular dystrophy (SMD)</i>	États-Unis

Tableau 1 : rapport de l'Agence de la biomédecine au Parlement et au Gouvernement avril 2010

Jusqu'au 2007, aucune étude clinique utilisant le potentiel des hiPS n'a été à ce jour débuté. En revanche, leur potentiel thérapeutique a été évalué expérimentalement avec succès chez la souris par l'équipe de Rudolf Jaenisch (2007) **Figure1**



Exemple de d'utilisation thérapeutique des iPS pour le traitement de souris drépanocytaires

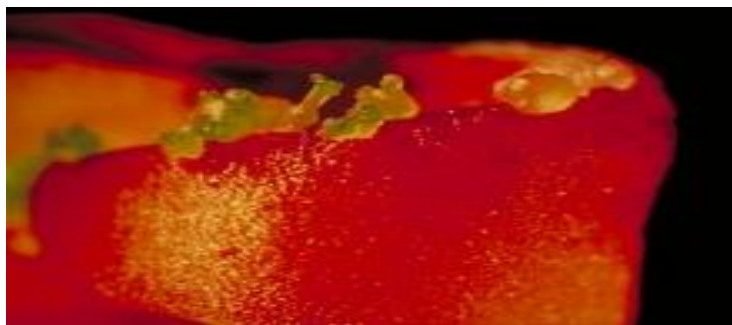
Les thérapies cellulaires actuelles utilisent des cellules souches multipotentes prélevées chez l'adulte ou le nouveau-né. Il s'agit de la transplantation de cellules souches du sang, de la greffe de peau et de la greffe de cornée

3-1 La culture *in vitro*

Principales techniques de culture *in vitro*, permettant d'exploiter la diversité et de faciliter les croisements interspécifiques, de diminuer la durée de création des variétés et d'obtenir du matériel végétal sain.

3-2 L'utilisation de la culture *in vitro*

- **Culture de méristèmes** : Les méristèmes sont des structures indemnes de virus, dont la culture *in vitro* permet d'obtenir des plantes saines. La culture de méristèmes a permis, dans les années 50, de guérir des plantes virosées, en particulier chez les plantes qui sont multipliées végétativement : pomme de terre, fraisier, tulipe, etc



Culture de méristème (Kalanchoé, plante grasse de la famille des Crassulacées)

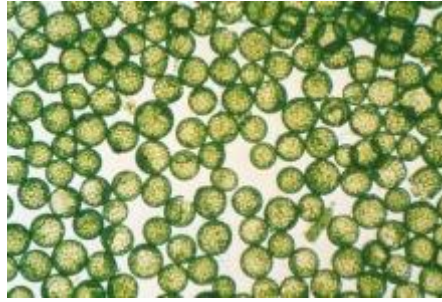
- **Culture d'embryons immatures** : La technique de culture d'embryons immatures permet d'accélérer les procédures classiques de sélection...
Les embryons sont prélevés quelques jours après la fécondation et non à maturité de la graine et cela permet ainsi de réaliser plusieurs générations par an. On peut réaliser en une année plusieurs cycles d'autofécondations ou de rétrocroisements successifs nécessaires pour la fixation et la conversion de lignées.
- **La fusion de protoplastes**
La fusion de protoplastes permet le croisement entre deux espèces éloignées... On obtient des protoplastes à partir de cellules végétales dont la paroi a été dégradée par des enzymes. Ces cellules peuvent non seulement fusionner entre elles mais encore régénérer des plantes entières.
- **Haplo-diploïdisation**

La création de lignées pures est une étape nécessaire dans les programmes d'amélioration des plantes. Elle permet de stabiliser les combinaisons génétiques favorables obtenues par sélection. Dans une lignée pure, les plantes sont "homozygotes" pour tous les caractères, c'est-à-dire que les deux lots de chromosomes homologues sont identiques. En sélection classique, on obtient cette "homogénéisation" du génome en réalisant de nombreuses autofécondations.
- **Sauvetage d'embryons interspécifiques**

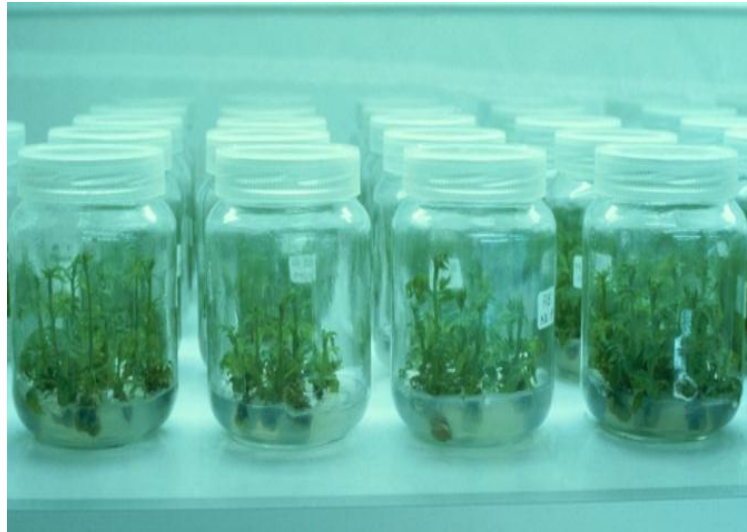
Pour "sauver" l'embryon, on le prélève quelques jours après la fécondation... À la suite d'une hybridation interspécifique (chou/radis, blé/orge), on peut rencontrer des problèmes d'incompatibilité entre les tissus embryonnaires et les tissus maternels provenant de l'ovule. Les chercheurs ont utilisé cette technique pour transférer des caractères agronomiques d'intérêt entre espèces sauvages et cultivées



Culture d'anthères d'aubergine



Protoplastes de tabac



culture in vitro en utilisant un milieu nutritif