



Liberté • Égalité • Fraternité

RÉPUBLIQUE FRANÇAISE

Ambassade de France à Washington
Service pour la Science et la Technologie
4101 Reservoir Road NW, Washington, DC 20007
Tél. : +1 202 944 6246
Mail : info@france-science.org
URL : <http://france-science.org>

Domaine : Sciences de la vie, CRISPR-Cas9, Edition du génome, Ethique, Politique scientifique
Document : Rapport d'Ambassade / Consulat Général de France à Los Angeles, Californie
Titre : Technologie CRISPR-Cas9 d'édition du génome: Point de situation aux États-Unis (février 2016)
Auteur(s) : Fabien Agenès (attache-sdv.la@ambascience-usa.org)
Gabrielle Mérite (deputy-sdv.la@ambascience-usa.org)
Date : Février 2016

Mots-clés :	Sciences de la vie, CRISPR-Cas9, Edition du génome, Ethique, Politique scientifique
Résumé :	<p>La technologie d'édition des gènes utilisant « CRISPR-Cas9 » a été développée dans les années 2010 aux Etats-Unis, simultanément à l'Université de Californie de Berkeley et au <i>Massachusetts Institute of Technology</i> (MIT) par, d'un côté Jennifer Doudna, de UC Berkeley et Emmanuelle Charpentier, chercheuse française à présent au <i>Max Planck Institute for Infection Biology</i> à Berlin, et d'autre part Feng Zhang du <i>Broad Institute of Harvard & MIT</i>. Depuis cette découverte, les laboratoires américains se maintiennent à l'avant-garde de la diffusion et de l'évolution de la recherche sur l'édition du génome et les technologies associées.</p> <p>La Mission pour la Science et la Technologie de l'Ambassade de France aux Etats-Unis suit activement les avancées autour de cette technologie CRISPR-Cas9. Plusieurs articles de veille ont été produits par la Mission sur les technologies d'édition du génome en général et sur CRISPR-Cas9. Ils ont été rassemblés et mis à jour dans le rapport ci-dessous qui propose de faire le point sur l'actualité entourant cette innovation dans les sphères scientifiques, politiques et économiques aux Etats-Unis.</p>

NB : Retrouvez toutes nos publications sur : <http://www.france-science.org/-Bulletin-de-veille-Science-.html>

Technologie CRISPR-Cas9 d'édition du
génomme:
Point de situation aux États-Unis
(février 2016)

Table des matières

INTRODUCTION GENERALE	1
UNE RECHERCHE ACADEMIQUE DE POINTE.....	1
UN POTENTIEL ECONOMIQUE MAJEUR	2
DES PROBLEMATIQUES ETHIQUES ET SOCIETALES PREGNANTES	3
LISTE DES CONTRIBUTEURS.....	5
NOTE N°1 SUR : LES TECHNOLOGIES D'EDITION DU GENOME.....	6
NOTE N°2 SUR : LA TECHNIQUE DU <i>GENE-DRIVE</i> DEVELOPPEE AUX ÉTATS-UNIS.....	12
NOTE N°3 SUR : LES APPLICATIONS DE CRISPR-CAS9 DANS LE DOMAINE DU BIOMEDICAL....	15
NOTE N°4 SUR : LES APPLICATIONS DE CRISPR/CAS9 DANS LE DOMAINE DE L'AGRONOMIE AUX ÉTATS-UNIS.....	20
NOTE N°5 SUR : BREVETS ET PROPRIETE INTELLECTUELLE LIES A CRISPR-CAS9	24
NOTE N°6 SUR : CREATION DE STARTUPS EN LIEN AVEC LE DEVELOPPEMENT DE LA TECHNOLOGIE CRISPR-CAS9 AUX ETATS-UNIS.....	27
NOTE N°7 SUR : LA GESTION DES PROBLEMES ETHIQUES POSES PAR LES TECHNIQUES D'EDITION DU GENOME PAR LES AUTORITES AMERICAINES.....	28
NOTE N°8 SUR : LA RENCONTRE AVEC JENNIFER DOUDNA (UC BERKELEY)	31

Introduction générale

Une recherche académique de pointe

La technologie d'édition des gènes utilisant « CRISPR-Cas9 » a été développée dans les années 2010 aux Etats-Unis, simultanément à l'Université de Californie de Berkeley¹ et au *Massachusetts Institute of Technology* (MIT)² par d'un côté Jennifer Doudna, de UC Berkeley et Emmanuelle Charpentier, chercheuse française à présent au *Max Planck Institute for Infection Biology* à Berlin, et d'autre part Feng Zhang du *Broad Institute of Harvard & MIT*.

Depuis cette découverte, les laboratoires américains se maintiennent à l'avant-garde de la diffusion et de l'évolution de la recherche sur l'édition du génome (Note n°1) et les technologies associées, notamment du système *gene-drive* (Note n°2). Les financements attribués par le NIH aux projets impliquant CRISPR-Cas9 et le *gene-editing* se sont multipliés et les publications sur le sujet ont augmentés de manière exponentielle (Figure 1 et Figure 2).

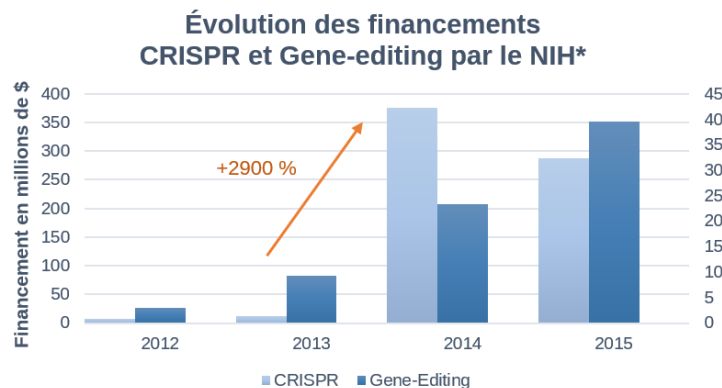


Figure 1

¹ [A programmable dual-RNA-guided DNA endonuclease in adaptive bacterial immunity](#). *Science*, Vol. 337 no. 6096 pp. 816-821, 17 août 2012

² [Multiplex genome engineering using CRISPR/Cas systems](#). *Science*, Vol. 339 no.6121 pp. 819-823, 15 février 2013.

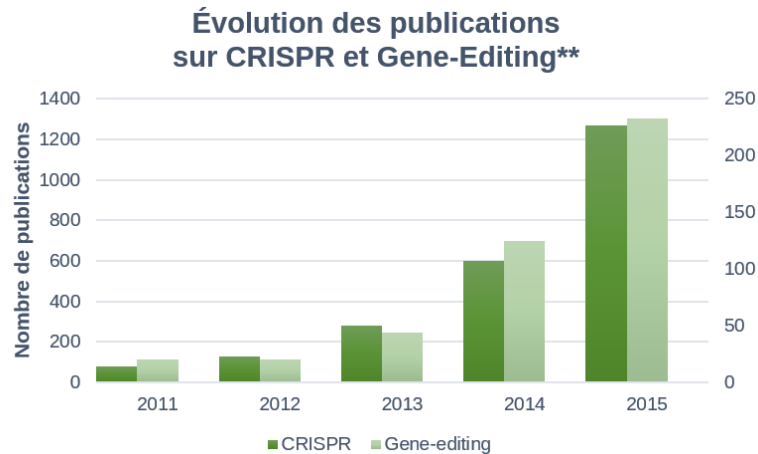


Figure 2

Les possibilités offertes par CRISPR-Cas9 ne se limitent pas au champ du biomédical (Note n°3) puisque la technologie s'apprête également à révolutionner d'autres domaines scientifiques. Récemment, la crise sanitaire du virus Zika a rappelé les avantages que représenteraient la transformation génétique de moustiques afin de les rendre résistants aux virus tropicaux, une approche, déjà testée par certains laboratoires³. En agronomie également, le système CRISPR-Cas9 constitue une avancée considérable puisqu'il rend possible l'obtention de variétés de plantes ou d'animaux génétiquement modifiés⁴, de manière plus précise et plus rapide que par les méthodes traditionnelles (Note n°4).

Un potentiel économique majeur

Si la question de la paternité partagée entre les trois chercheurs Doudna, Charpentier, et Zhang est toujours en suspens à ce jour (Note n°5), on assiste à la création de nombreuses entreprises de biotechnologies exploitant CRISPR-Cas9 (Note n°6). Les investissements publics et privés dévolus à la création de ces entreprises augmentent. À titre d'exemple, en 2014 et en 2015, ce sont 6 et 7 contrats de *Small Business Innovation Research* (SBIR – financements attribués aux petites et moyennes entreprises pour développer des projets de R&D) du NIH qui y ont été consacrés, alors qu'aucun n'avait été attribué auparavant.

* Ces données sont issues des rapports de financements du NIH accessibles sur [Report](#). La sélection des projets de recherche a été faite grâce à la recherche des mots clés « CRISPR » et « gene-editing ».

** Ces données sont issues d'une recherche des mots-clés « CRISPR » et « gene-editing » dans la base internationale de publications [PUBMED](#).

³ [A CRISPR-Cas9 gene drive system targeting female reproduction in the malaria mosquito vector *Anopheles gambiae*](#), *Nature Biotechnology*, Vol 34 p78-83, 7 décembre 2015

⁴ [Agriculture: A new breed of edits](#), *Nature*, Vol. 528 Issue 7580 p15-16, 3 décembre 2015

Des problématiques éthiques et sociétales prégnantes

Les questions éthiques qui entourent le potentiel immense de CRISPR-Cas9 dans le domaine biomédical soulèvent un large débat public, dont les scientifiques américains sont partie prenante^{5,6}. Dès avril 2015, des chercheurs chinois ont modifié pour la première fois le génome d'embryons humains non viables grâce à l'outil CRISPR-Cas9, suscitant l'inquiétude de communauté scientifique internationale (Note n°7). La Maison Blanche a réagi rapidement à travers une note déclarant son opposition à la modification génétique d'embryons humains, marquant ainsi une divergence avec la Grande-Bretagne qui, depuis février 2016, autorise ce type de manipulation à des fins de recherche fondamentale au *Francis Crick Institute*⁷. Les instituts et laboratoires américains sont partagés : si Francis Collins, directeur du NIH, a assuré que l'agence ne financerait pas de telles investigations, le *California Institute for Regenerative Medicine* a, lui, déjà lancé une réflexion pour décider si ses lignes directrices éthiques autoriseraient la recherche modifiant les gènes d'embryons en toute sécurité⁸. Comme le soulignent les chercheurs américains eux-mêmes, la législation liée aux applications cliniques risque d'être rapidement devancée par les avancées scientifiques⁹. Toutes ces problématiques ont été largement débattues pendant le congrès « International Summit on Human Gene Editing », conjointement organisé par l'US *National Academy of Sciences*, l'US *National Academy of Medicine*, la *Academy of Sciences* chinoise et la *Royal Society* britannique, qui s'est tenu du 1 au 3 décembre 2015 à Washington DC. Après avoir évalué les multiples applications du *gene-editing*, les experts ont convenu que la modification génomique ne serait acceptable que lorsque ses bénéfices (individuels et pour la société au sens large) surpasseraient ses risques¹⁰. Mettre en place une législation et des mesures de contrôle dépassant le seuil des laboratoires paraît d'autant plus indispensable que cette technologie est

⁵ [A prudent path forward for genomic engineering and germline gene modification](#), *Science*, Vol. 348, no. 6230, pp. 36-38, 3 avril 2015

⁶ [BEINGS 2015 : vers un consensus pour l'utilisation éthique des biotechnologies dans le domaine de la santé humaine](#), 8 juin 2015.

⁷ [UK scientists gain licence to edit genes in human embryos](#), *Nature*, Vol. 530, Issue 7588 p 18, 1 février 2015

⁸ [Timing is everything: could CRISPR gene editing push CIRM to change its rules on funding stem cell research?](#) 9 février 2016

⁹ [Editing policy to fit the genome?](#) *Science*, Vol.351 no. 6271 pp 337-339, 22 janvier 2016

¹⁰ [Meeting in Brief – International Summit on Human Gene Editing](#), 3 décembre 2015

à la portée de biologistes « amateurs »¹¹. L'Académie des Sciences américaine (*National Academies of Science, Engineering and Medicine*) a d'ores et déjà lancé un travail important d'investigation qui devrait donner lieu à des recommandations publiées dans un rapport prévu pour fin 2016¹². Très récemment et de façon assez surprenante, la communauté du renseignement américain (US Intelligence Community) a ajouté le *genome-editing* à la liste des armes de destructions massives¹³, identifiant la technologie comme une menace majeure pour les Etats-Unis et pour le monde, au même titre que les armes chimiques ou la bombe nucléaire.

Une rencontre récente du Service scientifique avec Jennifer Doudna (UC Berkeley) a permis de faire un point sur l'ensemble des aspects scientifiques, éthiques et économiques qui entourent l'outil CRISPR (Note n°8).

¹¹ [Biohackers gear up for genome editing](#), *Nature*, 26 août 2015.

¹² <http://nationalacademies.org/gene-editing/index.htm>

¹³ [WorldWide Threat Assessment of the US Intelligence Community](#), 9 février 2016.



Liste des contributeurs

- Gabrielle MERITE, Attachée adjointe pour la Science et la Technologie, Consulat Général de France à Los Angeles, deputy-sdv.la@ambascience-usa.org
- Flora PLESSIER, Attachée adjointe pour la Science et la Technologie, Consulat Général de France à Atlanta, deputy-univ@ambascience-usa.org
- Perrine VIARGUES, Attachée adjointe pour la Science et la Technologie (2014-2015), Consulat Général de France à Atlanta
- Olivier TOMAT, Expert technique international, Consulat Général de France à San Francisco, olivier.tomat@ambascience-usa.org
- Chloé BORDET, Attachée adjointe pour la Science et la Technologie, Consulat Général de France à Chicago, deputy-agro@ambascience-usa.org
- Hocine LOURDANI, Attaché adjointe pour la Science et la Technologie, Consulat Général de France à San Francisco, deputy-sf@ambascience-usa.org
- Fabien AGENES, Attaché pour la Science et la Technologie, Consulat Général de France à Los Angeles, attache-sdv.la@ambascience-usa.org
- Minh-Ha PHAM, Conseillère pour la Science et la Technologie, Ambassade de France aux Etats-Unis, conseiller@ambascience-usa.org

Note n°1 sur : les **technologies d'édition du génome**

Publiée initialement le 12 décembre 2014

Consultable sur <http://www.france-science.org/Les-nucleases-de-fabuleux-outils.html>

« Les nucléases, de fabuleux outils pour la chirurgie du génome :
les Etats-Unis se mobilisent »

Le génie génétique est un ensemble de techniques de biologie moléculaire, qui vise à modifier le génome des êtres vivants [1]. La thérapie génique fait appel à ces techniques pour soigner ou prévenir des pathologies causées par des aberrations (mutations) dans l'ADN d'un individu. L'approche classique consiste à insérer une copie fonctionnelle du gène déficient dans le génome mais cette méthode est limitée par le caractère aléatoire de l'insertion. Le transgène inséré peut en effet perturber, voire inactiver, l'expression d'un autre gène et être ainsi à l'origine d'effets indésirables graves. En outre, selon l'endroit d'insertion dans le génome, il est possible que l'expression du gène ne soit pas physiologique. Il peut, par exemple, être surexprimé ou sous-exprimé par rapport à son expression habituelle [2] [3] [4]. Au cours de ces dernières années, de nouvelles techniques plus précises, basées sur l'utilisation d'enzymes de restriction, sont apparues. Elles permettent une correction ciblée et stable du génome et suscitent de nombreux espoirs pour améliorer la thérapie génique.

La découverte des enzymes de restriction, en 1965, a révolutionné la biologie moléculaire, en apportant aux chercheurs de merveilleux outils (des ciseaux moléculaires) pour la manipulation de l'ADN. Ces enzymes, de la famille des nucléases, sont des protéines qui coupent l'ADN au niveau de séquences spécifiques, pour la plupart palindromiques (c'est-à-dire qu'elles se lisent de droite à gauche et inversement), appelées sites de restriction [5]. Dans la nature, elles sont synthétisées par les bactéries et leur confèrent une immunité en découpant l'ADN viral. En génie génétique, ces enzymes sont utilisées pour générer des coupures de l'ADN double-brin à un endroit précis du génome [6]. Les mécanismes cellulaires naturels vont alors se mettre en marche pour réparer l'ADN. Si une copie "saine" du gène à restaurer est délivrée dans la cellule, elle va servir de matrice de réparation permettant ainsi la reconstitution d'un gène complet et fonctionnel [7]. Quatre types de nucléases, décrits ci-dessous, sont utilisés pour la correction ciblée du génome [8].

Les méganucléases

A la fin des années 1990, les méganucléases sont apparues comme un outil prometteur pour la modification du génome. Ces enzymes naturelles sont capables de reconnaître de longues séquences d'ADN (séquences de 12 à 40 paires de bases), qui ne sont généralement présentes qu'une seule fois dans le génome, et au niveau desquelles elles peuvent générer des coupures double-brin. Cette propriété confère donc aux méganucléases une forte spécificité d'action [9].

Cependant, bien que chaque méganucléase présente des variations dans son site de reconnaissance de l'ADN, il est très difficile de trouver l'enzyme nécessaire pour agir sur une séquence d'ADN donnée. C'est pourquoi, des efforts ont été faits pour produire des méganucléases "sur mesure", en modifiant par mutagenèse la spécificité de méganucléases existantes ou en créant des méganucléases chimériques par association de domaines protéiques issus d'enzymes différentes. Une large banque comprenant plusieurs dizaines de milliers d'unités protéiques a ainsi été créée. Nous pouvons citer la société française Collectis, créée en 1999, qui a été pionnière dans ce domaine et qui produit chaque année plusieurs dizaines de méganucléases à spécificité modifiée [10]. Aux Etats-Unis, le *Northwest Genome Engineering Consortium*, financé par les NIH (*National Institutes of Health*) a adopté une stratégie bioinformatique pour tenter de prédire le plus précisément possible l'activité des méganucléases et la spécificité de la séquence nucléique reconnue [11] [12]. Le modèle est ensuite vérifié par des mutagenèses dirigées et des analyses biochimiques *in vitro*.

Les nucléases à doigts de zinc

Les nucléases à doigts de zinc sont des protéines hybrides créées à partir de la fusion de gènes codant pour les protéines à doigts de zinc, qui permettent l'interaction avec une séquence d'ADN définie, avec celui codant pour la région catalytique de l'enzyme de restriction FokI, qui apporte l'activité enzymatique. Chaque doigt de zinc reconnaît une courte séquence spécifique (trois nucléotides) mais l'association de plusieurs domaines doigts de zinc appropriés permet de cibler de manière unique la séquence d'intérêt [13]. Le domaine catalytique de FokI doit se dimériser pour pouvoir couper l'ADN. Ainsi, la correction du génome nécessite deux nucléases à doigts de zinc, ciblant chacune des séquences d'ADN éloignées l'une de l'autre de quelques nucléotides. La liaison des protéines à doigts de zinc va permettre le rapprochement des deux domaines catalytiques de FokI, qui vont alors se dimériser et couper l'ADN. En plus d'être un outil ingénieux à disposition de la communauté scientifique, ces nucléases pourraient prochainement être utilisées dans le domaine de la santé. En particulier, la compagnie américaine *Sangamo BioSciences* est en train de développer un traitement anti-VIH, basé sur les nucléases à doigts de zinc. Les nucléases seraient utilisées pour introduire une mutation dans le gène codant pour le corécepteur CCR5, nécessaire pour l'entrée du virus du sida dans les cellules T. L'inactivation du récepteur CCR5 confère donc une résistance au virus [14] [15]. Les essais cliniques de phase II sont actuellement en cours. En outre, la société, en collaboration avec l'institut *City of Hope* et l'Université de Californie du Sud, étudie la possibilité d'étendre cette technique aux cellules souches hématopoïétiques. En mai 2014, ils ont d'ailleurs reçu le *Strategic Partnership Award* et une bourse de 5,6 millions de dollars, pour financer les essais cliniques [16].

Les Transcription Activator Like-Effectors (TALENs)

Les TALENs sont des enzymes artificielles créées en fusionnant un domaine de liaison à l'ADN spécifique (succession de TAL effectors) et le domaine catalytique de l'enzyme FokI [17]. Les TAL effectors sont des protéines sécrétées par la bactérie phytopathogène *Xanthomonas*, qui lient des séquences particulières du génome de la plante [18]. La séquence protéique d'un TAL effector varie au niveau de deux acides aminés, qui sont impliqués dans la reconnaissance spécifique d'un nucléotide particulier dans le génome. En

conséquence, en combinant différents TAL effectors, le domaine de liaison à l'ADN des TALENs peut reconnaître une séquence génomique d'intérêt. Comme pour les nucléases à doigts de zinc, deux TALENs, ciblant chacune des séquences d'ADN de part et d'autre du site où doit avoir lieu la coupure, sont utilisées pour modifier le génome et le rapprochement des deux domaines de FokI va permettre la cassure de l'ADN double brin [19]. A titre d'exemple, des chercheurs américains ont ainsi réussi à corriger, dans des cellules humaines, la mutation du gène codant pour la β -globine, responsable de la drépanocytose [20]. La société Celectis, citée précédemment, et la multinationale américaine Thermo Fisher Scientific ont signé un accord, en juin dernier, concernant l'utilisation des nucléases TAL, sous la marque TALEN [21].

Le système CRISPR (Clustered Regularly Interspaced Short Palindromic Repeats)

Une nouvelle génération d'outils pour la réparation du génome, basée sur le système CRISPR, est maintenant disponible pour la communauté scientifique. Cette méthode s'est développée de façon remarquable ces deux dernières années, en partie grâce à sa simplicité d'utilisation et à son efficacité [22]. Dans la nature, CRISPR est la base du système immunitaire adaptatif des bactéries et des archées. En effet, les répétitions CRISPR sont composées d'une courte séquence de nucléotides suivies par, plus ou moins, la même séquence inversée (séquence palindromique) et d'une séquence "spacer" d'environ 30 paires de bases [23]. Ce "spacer" est de l'ADN viral qui a été inséré dans le génome de l'hôte, à la suite d'une précédente infection par un virus. Une fois la séquence CRISPR transcrite en ARN (crRNA), la séquence du "spacer" va reconnaître sa séquence complémentaire dans le génome du virus. Des protéines Cas (CRISPR-associated) vont ensuite se lier à la séquence palindromique du crRNA et provoquer la cassure de l'ADN du virus, neutralisant ainsi l'invasion. Les fragments d'ADN viral produits sont alors incorporés dans le génome de l'hôte, comme de nouveaux "spacers", et seront transmis lors de la division microbienne. En conséquence, les descendants de chaque individu porteront la trace de cette infection virale. Depuis peu, les biologistes ont tiré profit de ce processus pour permettre une modification ciblée d'un gène défectueux.

En 2013, une équipe de l'Université de Californie, à Berkeley, a construit des ARN, analogues aux séquences CRISPR, qui permettent de recruter la protéine Cas9 et d'induire, à un site spécifique, la cassure de l'ADN dans des cellules humaines [24]. Par ailleurs, un groupe du *Broad Institute* du MIT et d'Harvard a montré que, grâce à l'utilisation de différentes séquences "spacers" cibles, il était possible de corriger simultanément plusieurs sites du génome humain [25]. Aux Etats-Unis, de nombreuses sociétés ont saisi le potentiel de la technologie CRISPR et la guerre des brevets a été déclenchée. Les chercheurs du Broad Institute ont déposé un brevet et créé la startup Editas Medicine [26]. D'autre part, le *Broad Institute* a signé, le 4 décembre dernier, des accords non exclusifs avec les compagnies *GE Healthcare Life Sciences* et *Sigma-Aldrich*, pour autoriser l'accès à leur propriété intellectuelle [27]. *GE Healthcare Life Sciences* a d'ailleurs inauguré, en octobre, une plateforme basée sur le système CRISPR/Cas9, dédiée à la création permanente et héréditaire de mutations de gènes dans des cellules, en seulement une à deux semaines (les techniques classiques nécessitent un mois). *Sigma-Aldrich*, quant à elle, souhaite produire cet outil génétique pour diverses applications, comme la création de lignées cellulaires sur mesure et les criblages génétiques. De leur côté, Jennifer Doudna, de l'Université de Californie, et la française Emmanuelle

Charpentier, du *Helmholtz Centre for Infection Research* en Allemagne, ont chacune reçu, le mois dernier, le *Breakthrough Prize* de trois millions de dollars et ont respectivement vendu leur technique aux sociétés *Intellia Therapeutics*, située à Cambridge dans le Massachusetts, et *CRISPR Therapeutics*, basée en Suisse [28].

En conclusion, le génie génétique est un domaine en plein essor, grâce au développement de différentes techniques reposant sur l'utilisation de nucléases qui améliorent la spécificité d'action dans le génome. Ces technologies apportent des outils moléculaires très ingénieux pour la communauté scientifique et sont en passe de révolutionner la médecine personnalisée et la thérapie génique. En effet, de nombreuses pathologies sont causées par des mutations dans l'ADN et la possibilité de réparer le gène altéré directement au cœur de la cellule suscite beaucoup d'espoirs. Cette technique engendre aussi des craintes car plusieurs interrogations restent en suspens, comme par exemple celles de la spécificité relative de chaque nucléase ou l'utilisation de vecteurs appropriés pour le transfert de ces enzymes à l'intérieur des cellules et des organismes [29].

Références

- [1] "Genetic Engineering", Wikipedia - 01/12/2014 (dernière mise à jour).
http://en.wikipedia.org/wiki/Genetic_engineering
- [2] "Un espoir pour la thérapie génique", Florence Rosier, *Le Monde Science et Techno* - 09/06/2014.
http://www.lemonde.fr/sciences/article/2014/06/09/un-espoir-pour-la-therapie-genique_4434924_1650684.html#XgZX1sarlChfu8Py.99
- [3] "Thérapie génique", Inserm - 03/2014. <http://www.inserm.fr/thematiques/immunologie-hematologie-pneumologie/dossiers-d-information/therapie-genique>
- [4] "Thérapie génique", Wikipédia - 12/11/2014 (dernière mise à jour).
http://fr.wikipedia.org/wiki/Th%C3%A9rapie_g%C3%A9nique
- [5] "Enzyme de restriction", Wikipédia - 31/05/2014 (dernière mise à jour).
http://fr.wikipedia.org/wiki/Enzyme_de_restriction
- [6] "Genome editing", Science Media Centre Fact Sheet. <http://www.sciencemediacentre.org/wp-content/uploads/2014/07/Science-Media-Centre-Fact-Sheet-Genome-Editing.pdf>
- [7] "Thérapie génique", Inserm - 03/2014. <http://www.inserm.fr/thematiques/immunologie-hematologie-pneumologie/dossiers-d-information/therapie-genique>
- [8] "Correction du gène de la dystrophine avec les nucléases à doigts de zinc", *Mémoire de Jean-Paul YOMBE* - 2013. <http://www.nature.com/nm/journal/v20/n10/full/nm.3721.html>
- [9] "Meganuclease", Wikipedia - 02/02/2014 (dernière mise à jour).
<http://en.wikipedia.org/wiki/Meganuclease>
- [10] Site web de Collectis. <http://www.collectis.com/en>
- [11] "Genome engineering", Wikipedia - 30/08/2014 (dernière mise à jour).
http://en.wikipedia.org/wiki/Genome_engineering



- [12] Site web du *Northwest Genome Engineering Consortium*. <http://ngec-seattle.org/about-ngec>
- [13] "Zinc finger nuclease", Wikipedia - 07/11/2014 (dernière mise à jour). http://en.wikipedia.org/wiki/Zinc_finger_nuclease
- [14] "Product Pipeline, SB-728", *Sangamo BioSciences*. <http://www.sangamo.com/pipeline/sb-728.html>
- [15] "Genome Editing : a Tool for Research and Therapy : Targeted genome editing hits the clinic", Lombardo, A., and Naldini, L., *Nature Medicine* 20, 1101-1102 - 08/10/2014. <http://www.nature.com/nm/journal/v20/n10/full/nm.3721.html>
- [16] "Sangamo BioSciences and City of Hope Granted Strategic Partnership Award From California Institute for Regenerative Medicine To Support Clinical Trial Of Stem-Cell Based ZFP Therapeutic For HIV/AIDS", *Market Watch* - 30/05/2014. <http://www.marketwatch.com/story/sangamo-biosciences-and-city-of-hope-granted-strategic-partnership-award-from-california-institute-for-regenerative-medicine-to-support-clinical-trial-of-stem-cell-based-zfp-therapeutic-for-hiv-aids-2014-05-30>
- [17] "Correction du gène de la dystrophine avec les nucléases à doigts de zinc", *Mémoire de Jean-Paul YOMBE* - 2013. <http://www.nature.com/nm/journal/v20/n10/full/nm.3721.html>
- [18] "Genome editing", Science Media Centre Fact Sheet. <http://www.sciencemediacentre.org/wp-content/uploads/2014/07/Science-Media-Centre-Fact-Sheet-Genome-Editing.pdf>
- [19] "Genome-TALERTM Custom TALEN and TAL Effector Services", GeneCopoeia. <http://www.genecopoeia.com/product/talen-tal-effector/>
- [20] "Optimized TAL effector nucleases (TALENs) for use in treatment of sickle cell disease", Sun, N. et al., *Molecular Biosystem* 8, 1255-1263 - 03/02/2012. <http://pubs.rsc.org/en/Content/ArticleLanding/2012/MB/c2mb05461b#!divAbstract>
- [21] "TALEN and CRISPR/Cas Genome Editing Systems : Tools of Discovery", Nemudryi, A. A. et al., *Acta Naturae* 6, 19-40 - 03/03/2014. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4207558/>
- [22] "Revolutionizing genome engineering : Review on history and future of the CRISPR-Cas9 system published", Phys.org - 01/12/2014. <http://phys.org/news/2014-12-revolutionizing-genome-history-future-crispr-cas9.html>
- [23] "CRISPR offers unrestricted opportunities to edit genes", Jeremy Cherfas, *ScienceWatch* - 10/2014. <http://sciencewatch.com/articles/crispr-offers-unrestricted-opportunities-edit-genes?elq=1188709262ff44c8bd9db92e30619d18&elqCampaignId=10340>
- [24] "RNA-programmed genome editing in human cells", Jinek, M. et al., *eLife* 2013 ;2:e00471, 1-9 - 29/01/2013. <http://elifesciences.org/content/2/e00471>
- [25] "Multiplex Genome Engineering Using CRISPR/Cas Systems", Cong, L. et al., *Science* 339, 819-823 - 15/02/2013. <https://www.sciencemag.org/content/339/6121/819>
- [26] "Gene Therapy's Next Generation", Aaron Krol, *Bio.IT World* - 29/01/2014. <http://www.bio-itworld.com/2014/1/29/gene-therapys-next-generation.html>
- [27] "GE Healthcare Life Sciences, Sigma-Aldrich License CRISPR/Cas9 Patents", Alex Philippidis, *Genetic Engineering & Biotechnology News* - 04/12/2014. <http://www.genengnews.com/gen-news-highlights/ge-healthcare-life-sciences-sigma-aldrich-license-crispr-cas9-patents/81250664/>



[28] "Who Owns the Biggest Biotech Discovery of the Century ?", Antonio Regalado, MIT Technology Review - 04/12/2014. <http://www.technologyreview.com/featuredstory/532796/who-owns-the-biggest-biotech-discovery-of-the-century/>

[29] "ZFN, TALEN, and CRISPR/Cas-based methods for genome engineering", Gaj, T. et al., *Trends in Biotechnology* 31, 397-403 - 07/2013. <http://www.cell.com/trends/biotechnology/abstract/S0167-7799%2813%2900087-5>

Note n°2 sur : la **technique du *gene-drive* développée aux États-Unis**

Publiée initialement le 4 décembre 2015

Consultable sur <http://www.france-science.org/L-outil-CRISPR-Cas9-ouvre-la-voie.html>

« L'outil CRISPR/Cas9 ouvre la voie à la modification génétique de population sauvage »

L'outil de modification génétique CRISPR/Cas9, dont la montée en puissance et les questions éthiques associées ont été abordées dans des brèves antérieures [1] [2], a permis récemment de concrétiser des approches nouvelles dont les implications épidémiologiques, sociétales et éthiques soulignent la nécessité d'une réflexion autour de cet outil.

Le développement récent de kits de transgénèse CRISPR/Cas9 disponibles pour les particuliers pour moins de 160 dollars illustre l'évolution de l'accessibilité à de tels outils [3].

Des recherches utilisant CRISPR/Cas9 pour mettre au point un système d'ingénierie génétique qui permettrait de modifier génétiquement une population sauvage ont fait l'objet d'une publication récente très remarquée et ces travaux sont présentés ci-dessous. Les avancées rendues possibles par CRISPR/Cas9 en termes de modification du génome humain et de modification génétique d'espèces animales ou végétales d'intérêt agro-alimentaires, ainsi que les régulations autour de cet outil, seront abordées dans deux brèves ultérieures.

Un bref aperçu de l'outil CRISPR/Cas9

Contrairement aux outils de modification du génome précédemment développés (nucléases à doigt de zinc, TALENs -Transcription activator-like effector nuclease-), qui étaient des protéines devant être finement conçues et optimisées pour assurer la reconnaissance et la coupure de la séquence ADN ciblée, la spécificité du système CRISPR/Cas9 repose sur la complémentarité d'un ARN guide (dont la structure moléculaire est proche de celle de l'ADN) avec la séquence d'ADN ciblée, la nucléase Cas9 assurant ensuite la coupure de l'ADN à cet endroit. La conception de cette séquence d'ARN guide complémentaire est plus facile et sa synthèse moins coûteuse que l'ingénierie et la production de protéines, ce qui rend cet outil beaucoup plus versatile et accessible que les systèmes précédents. Une synthèse de ces différentes techniques, détaillant le système CRISPR/Cas9, a fait l'objet d'une brève précédente [4].

CRISPR/Cas9 et « *gene drive* » : une stratégie de modification génétique « transmissible » pour lutter contre le paludisme

Des chercheurs californiens viennent de produire des moustiques modifiés génétiquement par CRISPR/Cas9 pour résister au parasite responsable du paludisme et capables, contrairement aux règles d'héritabilité classique, de transmettre cette modification à près de 98% de leur descendance grâce à un mécanisme de copier-coller génétique (*gene drive*). [5] [6]. Si ces moustiques modifiés étaient relâchés

dans la nature, ce gène de résistance pourrait envahir la population de moustiques sauvages en une dizaine de génération (une saison chez ces espèces) et avoir une incidence majeure sur ce vecteur de contamination [7]. Le paludisme est causé par des parasites du genre *Plasmodium* transmis par des moustiques infectés. Environ 650 000 personnes en meurent chaque année (rapport OMS de 2013), principalement sur le continent africain.

Si la modification génétique de moustiques pour lutter contre le paludisme est une piste à l'étude depuis plusieurs années (certaines études utilisent déjà CRISPR/Cas9 pour cela), la mise au point d'un mécanisme de conversion (*gene drive*) pour propager ces modifications au sein de la population sauvage au fil des générations est une avancée majeure [8].

Développé il y a quelques mois par le duo Valentino Gantz et Ethan Bier de l'*University of California San Diego* chez la mouche grâce à l'outil CRISPR/Cas9 [9], ce système permet de copier-coller le gène de résistance et le système de propagation au chromosome homologue. Lorsqu'un moustique modifié génétiquement (comportant le transgène de résistance à l'infection et ce *gene drive*), se reproduit avec un moustique non modifié (sauvage), la progéniture obtient une copie maternelle et une copie paternelle de chaque gène, soit un gène modifié et un sauvage dans ce cas. Le *gene drive* assure (grâce à un système CRISPR/Cas9) un copier-coller au niveau du gène non modifié et y insère le gène de résistance et la cassette de copier-coller, ce qui permet la transmission du mécanisme à l'intégralité de la génération suivante et l'installation progressive du transgène dans la population. Ce système pourrait ainsi conduire à l'immunisation, au fil des générations, de cette espèce de moustique face au parasite.

Des mécanismes de *gene drive* sont étudiés de longue date, de nombreux gènes présentant une fréquence de transmission supérieure à 50%, et la réflexion autour de l'ingénierie du *gene drive* n'est pas nouvelle [10]. La découverte et l'appropriation technique récente du système CRISPR/Cas9, qui permet une coupure précise de l'ADN chez virtuellement n'importe quelle espèce, fournit aujourd'hui l'outil moléculaire nécessaire à son développement concret.

Perspectives

Si ces recherches suscitent beaucoup d'espoirs, les scientifiques attirent l'attention sur le caractère irréversible de l'introduction de ces animaux au sein de populations sauvages et sur les conséquences écologiques imprévisibles qui pourraient en résulter. Par ailleurs, la population de moustiques sauvages présente une variabilité génétique bien plus importante que les modèles de laboratoire et la preuve de concept de cette approche ne garantit pas son efficacité ou sa stabilité à court et moyen terme. Des événements naturels incontrôlables comme des mutations génétiques pourraient conduire à une perte de fonction du système.

Notons qu'en théorie, il est possible d'utiliser un nouveau transgène dont le *gene drive* reconnaîtrait la modification génétique précédente, pour la corriger [11]. Cette possibilité d'édition successive offre une piste de retour en arrière ou de mise à jour du système, mais soulève des questions concernant l'accès à ces technologies. Le flou juridique à l'échelle nationale et internationale concernant la régulation

d'organismes génétiquement modifiés comportant un *gene drive*, est également mis en avant par les scientifiques [12].

Néanmoins, ces travaux constituent une réelle percée scientifique et technique et la preuve de concept de cette stratégie dans le cadre de la lutte contre le paludisme ouvre des perspectives extrêmement prometteuses en santé publique et dans le domaine agronomique, où cet outil pourrait être utilisé pour éditer les bases génétiques des résistances aux insecticides et aux pesticides [13]

Références

- [1] <http://www.france-science.org/Les-nucleases-de-fabuleux-outils.html>
- [2] <http://www.france-science.org/Modification-du-genome-humain-la.html>
- [3] <https://www.genomeweb.com/gene-silencing/gene-editing/bay-area-synthetic-biologist-looks-establish-crispr-diy-science>
- [4] <http://www.france-science.org/Les-nucleases-de-fabuleux-outils.html>
- [5] <http://universityofcalifornia.edu/news/uc-scientists-create-malaria-blocking-mosquitoes>
- [6] <http://www.pnas.org/content/early/2015/11/18/1521077112.full.pdf>
- [7] <http://www.nytimes.com/2015/11/24/science/gene-drive-mosquitoes-malaria.html>
- [8] <http://www.technologyreview.com/news/543721/with-this-genetic-engineering-technology-theres-no-turning-back/>
- [9] <http://www.sciencemag.org/content/348/6233/442.abstract?sid=f19d7067-2fa0-4930-bc25-d01f1d3dbdf0>
- [10] <http://rspb.royalsocietypublishing.org/content/270/1518/921>
- [11] <http://elifesciences.org/content/3/e03401.full>
- [12] <http://www.sciencemag.org/content/345/6197/626.full>
- [13] <http://elifesciences.org/content/3/e03401.full>

Note n°3 sur : les **applications de CRISPR-Cas9 dans le domaine du biomédical**

Publiée initialement le 19 février 2016

Consultable sur <http://www.france-science.org/Quand-l-outil-CRISPR-revolutionne.html>

« Quand l'outil CRISPR révolutionne la médecine moderne »

En plein essor depuis 2012, la technique d'ingénierie génétique CRISPR révolutionne actuellement le monde biomédical par sa capacité à cibler et couper avec précision n'importe quelle séquence génétique. Si d'autres technologies permettent aussi d'éditer le génome, CRISPR s'impose peu à peu comme la technique phare en raison de sa facilité d'utilisation, de son coût réduit et de son développement plus accessible que les techniques antérieures.

CRISPR et la thérapie génique corrective *in situ*

L'une des applications médicales les plus attendues avec CRISPR est la correction au sein de l'organisme d'anomalies génétiques responsables de maladies graves. En agissant directement sur le défaut génétique dans cellules touchées, les outils d'édition génétique comme CRISPR apportent une solution aux problèmes historiques de maintien de la correction sur le long terme et de régulation physiologique du gène corrigé.

Très récemment, CRISPR a déjà été utilisé avec succès *in vivo* chez des souris ou rats modélisant des maladies génétiques graves affectant les muscles (la myopathie de Duchenne) [1], le foie (la tyrosinémie) [2] ou encore les yeux (la rétinite pigmentaire héréditaire) [3]. Dans ces études, les symptômes des animaux modèles ont pu être partiellement soulagés grâce à la correction génétique par CRISPR de la mutation au sein des organes touchés.

Néanmoins, l'acheminement de CRISPR dans les cellules pathologiques reste une difficulté. A cet obstacle s'ajoute le risque d'effets indésirables de CRISPR, qui constitue un frein majeur au développement clinique. CRISPR agit à la manière de « ciseaux moléculaires » à ADN, censés exciser une mutation génétique pour pouvoir ensuite la remplacer par la bonne séquence génétique. Il est donc indispensable de s'assurer que le système n'effectue pas de coupures non spécifiques dans l'ADN préjudiciables pour l'organisme.

Dans les derniers mois, plusieurs équipes de recherche ont amélioré les « ciseaux moléculaires » pour gagner en précision, ce qui réduit fortement ce risque d'effets indésirables [4]. L'évaluation de ces coupures non spécifiques et des réarrangements chromosomiques potentiels a aussi progressé [5]. Malgré ces avancées, il n'y a pas encore d'essai clinique de correction génétique *in situ* impliquant l'outil CRISPR (contrairement aux techniques plus matures des nucléases à doigt de zinc et des TALENs qui font déjà l'objet d'essais cliniques en phase I et II).

Certaines entreprises de biotechnologies dont *Editas Medicine* se sont lancées sur ces thématiques et les essais cliniques pourraient voir le jour rapidement. Cette start-up, fondée par le Pr Zhang - un des

développeurs de CRISPR, travaille notamment sur un traitement d'une forme de cécité congénital (l'Amorause de Leber) et envisage des essais cliniques d'ici 2017 [6].

CRISPR et la thérapie cellulaire personnalisée *ex-vivo*

Outre ces approches classiques de thérapie génique *in vivo*, CRISPR se greffe également à des approches *ex-vivo*, où des cellules de patients sont isolées, modifiées génétiquement en laboratoire avec CRISPR de manière spécifique à chaque patient et puis réinjectées dans l'organisme. Avec les approches *ex-vivo*, l'efficacité de la modification génétique et l'absence d'effets néfastes peuvent ainsi être vérifiés avant de réintroduire ces cellules-médicaments chez les patients.

CRISPR et les cellules T-CAR : reprogrammer le système immunitaire pour traquer les cellules tumorales

En cancérologie, CRISPR serait particulièrement intéressant dans le cadre d'un nouveau type de thérapie innovante : les cellules T-CAR, des cellules immunitaires spécifiques reprogrammées pour cibler et éliminer des cellules cancéreuses du système immunitaire.

La production des T-CAR se fait en isolant puis en reprogrammant génétiquement *in vitro* certaines cellules immunitaires issues du patient pour ensuite lui réinjecter ce "médicament" sur mesure (approche *ex-vivo*). Jusqu'à présent, le remaniement génétique des T-CAR reposait sur d'autres outils d'ingénierie génétique. La venue de CRISPR promet de faciliter le développement de cette approche et notamment son application à d'autres types de cancers.

Les entreprises américaines se sont déjà engagées dans cette voie associant T-CAR et CRISPR : le géant pharmaceutique Novartis a, dès janvier 2015, passé un accord sur l'exploitation de CRISPR pour l'ingénierie des T-CAR avec la start-up *Intellia Therapeutics*, fondée par Jennifer Doudna -la co-découvreuse de CRISPR. *Juno therapeutics* (Seattle, WS) et *Editas Medicine* (Cambridge, MA) ont également annoncé récemment qu'ils mettraient en commun leur expertise, respectivement dans le domaine des T-CAR et de l'outil CRISPR [7].

CRISPR et la lutte contre les virus : rendre les cellules résistantes à l'infection et nettoyer les virus latents

Dans la lutte contre les virus, des approches thérapeutiques utilisant l'ingénierie génétique sont déjà développées. L'entreprise américaine *Sangamo Biosciences* [8] a, par exemple, recours aux nucléases à doigts de zinc pour rendre non fonctionnel le gène codant le récepteur CCR5 nécessaire à l'entrée cellulaire du virus responsable du SIDA. Les cellules ainsi modifiées sont résistantes à l'infection par le VIH. Ce type de stratégie est actuellement développé avec CRISPR au niveau pré-clinique par d'autres équipes [9].

A ces procédés s'ajoute une approche encore plus novatrice : la possibilité grâce à CRISPR d'éliminer les morceaux d'ADN viral directement au sein des cellules infectées pour se débarrasser de ces virus latents. La preuve de concept a déjà été réalisée pour le virus de l'hépatite B [10] et le VIH [11] respectivement *in vivo* sur des modèles animaux et *in vitro* sur des cellules humaines par des équipes taiwanaises et américano-japonaises.

CRISPR et les cellules souches pluripotentes induites : l'explosion des thérapies cellulaires sur mesure

Encore plus que pour les thérapies *ex-vivo* évoquées, limitées par la nécessité d'isoler les cellules ciblées chez le patient, le potentiel thérapeutique de l'outil CRISPR se révèle pleinement lorsqu'il est associé aux dernières évolutions technologiques du champ des cellules souches.

En effet, depuis 2007, les chercheurs sont en mesure de transformer certaines cellules de la peau par exemple en cellules pluripotentes nommées iPSC – *induced pluripotent stem cells*, qui sont ensuite différenciables en de nombreux types cellulaires.

La combinaison des iPSCs avec CRISPR démultiplie les possibilités thérapeutiques notamment pour des maladies difficilement traitables. Dans le cas de patients atteints d'une maladie touchant les cellules sanguines, la bêta-thalassémie, il devient ainsi envisageable de produire des usines cellulaires à globules rouges sains à partir de certaines cellules de la peau de patients. La preuve de concept a été réalisée *in vitro* récemment [12]. Cependant la transplantation de ces cellules dans l'organisme –pour l'instant chez des modèles animaux- se heurte à des obstacles techniques.

CRISPR et l'optogénétique : une piste dans le traitement fonctionnel de maladies neuronales

Enfin, CRISPR promet de révolutionner également les traitements de pathologies neurologiques en particulier en s'associant avec une autre technologique récente : l'optogénétique. Actuellement à l'étude dans le traitement fonctionnel de certaines pathologies neurologiques (comme les douleurs chroniques ou encore la maladie d'Alzheimer), l'optogénétique permet d'activer ou d'inhiber des cellules nerveuses, préalablement modifiés génétiquement, au moyen de rayons lumineux [13], [14]. CRISPR pourrait ainsi assurer cette étape de modification génétique indispensable au fonctionnement de l'optogénétique.

Qui pourra bénéficier de ces thérapies « miraculeuses » ?

Actuellement, le coût d'une thérapie génique (*in vivo* ou *ex-vivo*) si elle est disponible, est extrêmement élevé. Glybera, le premier traitement de thérapie génique corrective approuvé par l'Union Européenne (en 2012, pour traiter une forme de dyslipidémie très rare) serait ainsi commercialisé prochainement à un prix dépassant le million d'euro par patient [15]. Les traitements pour soigner certaines leucémies à l'aide de cellules T-CAR atteignent des coûts supérieurs à 150 000 € alors même qu'il ne s'agit encore que d'essais cliniques expérimentaux et non de produits commerciaux.

Bien que CRISPR puisse peut-être alléger le développement clinique en raison de sa facilité d'utilisation et de son coût moindre et mener à une diminution de ces coûts à terme, il est probable que ces traitements restent inaccessibles à une grande partie de la population. La question de l'accès à ces thérapies, parfois décrites comme miraculeuses, et en particulier de leur prise en charge par les systèmes d'assurance santé publique ou privée reste ainsi en suspens [16].

Conclusion

Dans le domaine médical, on assiste actuellement à une véritable révolution portée par les outils d'édition du génome et en particulier par CRISPR. La majorité des pistes présentées ici ont été développées dans les derniers mois, soulignant le rythme extrêmement rapide de cette transformation. Cette dynamique est portée autant par les entreprises biotechnologiques que par les organismes de financement de la recherche publique. Ainsi, le National Institutes of Health – NIH, a annoncé en novembre dernier, qu'il consacrerait près de 48 millions de dollars pour la création d'un nouvel institut qui se focalisera sur les thérapies cellulaires personnalisées associant les cellules pluripotentes induites (iPSCs) et des techniques d'édition du génome [17].

Les grands acteurs de la recherche l'ont bien compris : la découverte de CRISPR marque un tournant dans l'histoire de la médecine. Les premiers résultats concrets des essais cliniques utilisant l'outil CRISPR sont attendus d'ici quelques années.

Références

- [1] [CRISPR helps heal mice with muscular dystrophy](#), *Science*, 31 décembre 2015
- [2] [CRISPR/Cas9 therapeutic for Tyrosinemia type I delivered to mice](#), University of Massachusetts Medical School, 1 février 2016
- [3] [Gene editing technique improves vision in rats with inherited blindness](#), *ScienceDaily*, 8 janvier 2016
- [4] [High-fidelity CRISPR-Cas9 nucleases have no detectable off-target mutations](#), *ScienceDaily*, 6 janvier 2016
- [5] [Delivery and Specificity of CRISPR-Cas9 Genome Editing Technologies for Human Gene Therapy](#), *Human Gene Therapy*, 15 juillet 2015
- [6] [CRISPR Gene Editing to Be Tested on People by 2017](#), Says Editas, MIT Technology Review, 5 novembre 2015
- [7] [Juno Therapeutics and Editas Medicine Announce Exclusive Collaboration to Create Next-Generation CAR T and TCR Cell Therapies](#), 27 mai 2015
- [8] [First-In-Man Study Of Genome Editing Using Sangamo's ZFN Technology Published In New England Journal Of Medicine](#), 5 mars 2014
- [9] [In CRISPR Advance, Scientists Successfully Edit Human T Cells](#), University of California San Francisco, 28 juillet 2015
- [10] [The CRISPR/Cas9 System Facilitates Clearance of the Intrahepatic HBV Templates *In Vivo*](#), *Nature*, 19 août 2014
- [11] [The CRISPR/Cas9 System Facilitates Clearance of the Intrahepatic HBV Templates *In Vivo*](#), *Nature*, 19 août 2014



- [12] [Patient Specific iPSCs Team Up with CRISPR/Cas9](#), Epigenie, 12 août 2014
- [13] [Revolutionary Neuroscience Technique Slated for Human Clinical Trials](#), *Scientific American*, 5 janvier 2016
- [14] [Optogenetics moves toward clinical trials, treatments for diseases like Alzheimer's](#), Evaluation Engineering, 12 janvier 2016
- [15] [First gene therapy drug sets million-euro price record](#), *Reuters*, 26 novembre 2016
- [16] [Box 3 : Pricing gene therapy](#), *Nature*, 15 octobre 2015
- [17] [NIH puts up \\$48.2M for progenitor cell translational research consortium](#), RegMedNet, 18 novembre 2015

Note n°4 sur : les **applications de CRISPR/Cas9 dans le domaine de l'agronomie aux États-Unis**

Publiée initialement le 18 décembre 2015

Consultable sur <http://www.france-science.org/Modification-du-genome-humain-la.html>

« La transgénése 2.0 avec CRISPR :
modification génétique multiple et édition du génome sans laisser de traces »

Outre la possibilité de modifier le génome de n'importe quelle espèce, plus facilement et à moindre coût qu'avec les techniques précédentes, le système CRISPR/Cas9 (voir plus bas) a permis le développement d'approches inédites en ingénierie génétique dont les retombées sont loin de se limiter à la sphère académique.

La mise au point, grâce à ce système, d'un outil qui pourrait permettre de répandre une modification génétique au sein d'une population sauvage au cours de générations successives, en est un exemple récent [1]. D'autres avancées marquantes sont présentées ici : la modification simultanée du génome en plusieurs endroits et la modification précise de la séquence d'un gène, parfois sans laisser de traces.

L'outil CRISPR/Cas9

L'outil CRISPR/Cas9, dont le développement a connu une croissance exponentielle dans les trois dernières années, permet de couper, grâce à une nucléase Cas9, une séquence d'ADN spécifique, reconnue par complémentarité avec un ARN particulier servant de guide. Les mécanismes cellulaires de réparation de l'ADN à cet endroit permettent ensuite d'aboutir soit à l'inactivation du gène ciblé, soit, en association avec l'apport de matériel génétique spécifique, à l'insertion d'une séquence génétique ou à la modification de la séquence existante.

CRISPR et l'ingénierie génétique animale : des enjeux bio-médicaux et agro-alimentaires

Récemment, des chercheurs de l'équipe de George Church (Université d'Harvard, Wyss Institute) ont utilisé CRISPR/Cas9 pour inactiver les 62 copies d'un gène nécessaire à la transmission de rétrovirus dans des cellules porcines en culture [2]. Cette modification permet de réduire drastiquement la transmission du virus à des cellules humaines in vitro. La présence chez le porc de ces rétrovirus endogènes potentiellement transmissibles à l'homme est l'un des obstacles au développement de techniques visant à utiliser des organes de porcs pour des greffes chez l'homme. La preuve de concept in vitro de la modification de toutes les copies d'un gène constitue donc une avancée remarquable, même si l'efficacité de cette technique au niveau de l'organisme reste à démontrer.

Une étude récente de chercheurs en sciences vétérinaires de l'Université du Missouri a utilisé CRISPR/Cas9 avec succès pour surmonter les difficultés liées à la transgénése chez le porc. Ils ont ainsi

pu produire très rapidement des animaux dont l'un des gènes nécessaires pour l'infection par un virus (le *porcine reproductive and respiratory syndrome virus* -PRRSv) était inactivé [3] [4]. Ces porcs sont alors résistants à cette infection qui représente un problème majeur de santé vétérinaire. Les coûts qui y sont associés aux Etats-Unis sont estimés à plus de 600 millions de dollars par an (étude de 2011).

Si les applications médicales et la commercialisation à visée agro-alimentaire semblent encore éloignées, le développement accéléré de méthodes d'ingénierie génétique grâce à CRISPR/Cas9 représente une évolution technologique majeure, surtout pour les nombreuses espèces pour lesquelles on ne disposait pas jusqu'alors d'outils efficaces, comme dans le cas du porc.

CRISPR et l'inactivation de copies multiples de gènes chez des plantes cultivées

Dans le domaine agronomique, le système CRISPR/Cas9 est utilisé depuis 2013 aux Etats-Unis comme dans d'autres pays, pour modifier génétiquement en laboratoire *Arabidopsis thaliana*, un modèle majeur en biologie végétale, mais aussi des espèces de riz, de tabac, de blé, de sorgho, de maïs, de tomate, d'orange,... Cette liste se rallonge constamment [5].

La modification simultanée de plusieurs copies de gènes avec CRISPR/Cas9 est particulièrement intéressante dans ce domaine car de nombreuses espèces cultivées ont connu des événements de duplication du génome et possèdent plusieurs copies de chaque gène. Ces événements, très rares chez les espèces animales, sont relativement fréquents chez les plantes : certains blés cultivés possèdent 2 ou 3 lots de chromosomes homologues (génome tetra- ou hexaploïde), contre un lot de chromosomes homologues deux à deux chez l'homme et dans la majorité des espèces animales étudiées (génome diploïde)

En 2014, une équipe chinoise a réussi à l'aide de l'outil CRISPR à inactiver simultanément les différentes copies d'un gène de susceptibilité au mildiou présent trois fois dans le génome d'une espèce de blé, soit six modifications au total (un allèle paternel et un allèle maternel pour chaque gène) [6].

Cette stratégie d'inactivation des gènes de susceptibilité à certaines pathologies permettrait de limiter l'utilisation de fongicides et de pesticides. Si une telle approche n'est pas nouvelle, la facilité relative et la rapidité avec laquelle l'outil CRISPR/Cas9 permet sa mise en place encourage fortement son développement.

Edition du génome et obtention de plantes éditées identiques à des plantes naturelles

Deux équipes indépendantes, l'une chinoise et l'autre britannique travaillant sur des espèces de riz [7] et d'orge [8] ont récemment réussi à obtenir des plantes dont l'un des gènes était bien modifié grâce à CRISPR/Cas9 et où cet outil, introduit dans ces études via un transgène ne s'intégrant pas au génome, pouvait être perdu dans les générations suivantes.

Cet événement rare produit alors des plantes éditées, transmettant la modification génétique à leur descendance et qui ne présentent aucune trace génétique de cette intervention. Ces plantes ne diffèrent

pas de plantes présentant une variation naturelle dans l'un de leur gène et soulèvent donc des questions majeures en termes de l'applicabilité de certaines régulations.

Quelles régulations pour les produits de l'ingénierie génétique de « seconde génération » ?

La stratégie visant à modifier un ou des gènes déjà présents contraste fortement avec les technologies d'ingénierie agronomique « historiques », qui visent à insérer un gène d'une autre espèce au sein du génome et cette évolution pose la question d'une éventuelle mise à jour des régulations dans ce domaine.

Le Ministère de l'Agriculture américain (the *US Department of Agriculture*) a déjà indiqué que ce type de modification génétique chez des plantes cultivées, où il n'y a pas d'ajout d'un gène d'un autre organisme, et dont le produit final est similaire à des variétés obtenues par des méthodes classiques de croisements, mutagenèse et sélection, ne ferait a priori pas l'objet de régulations. . Il est, néanmoins, attendu que l'USDA rende un avis plus précis prochainement sur le cas des produits obtenus à partir de la technique CRISPR/Cas 9. L'Union Européenne doit quant à elle déterminer dans les prochains mois si ce type de produit est concerné par les lois actuelles sur les organismes génétiquement modifiés [9] [10].

Aux Etats-Unis, l'utilisation d'approches d'ingénierie génétique dans le domaine agro-alimentaire est en pleine explosion [11] [12]. L'approbation récente d'un saumon transgénique produisant une hormone de croissance, sans obligation d'étiquetage OGM (contrairement aux normes européennes actuelles) par la Food and Drug Administration (FDA, l'autorité régulatrice américaine) a envoyé un signal fort aux industriels de ce domaine [13].

Les exemples récents développés ici, centrés sur le cochon et certaines espèces végétales de consommation, sont représentatifs de l'accélération de l'innovation technologique permise grâce à CRISPR/Cas9. Cet outil permet ainsi de repousser certaines limites techniques en ingénierie génétique dans des champs extrêmement variés, mais l'encadrement réglementaire de son utilisation reste une question majeure.

Mise à jour du 12 février 2016 : Des développements commerciaux à venir importants

Aux Etats-Unis, plusieurs entreprises d'obtention de semences s'intéressent de près à cette technique afin d'accélérer les processus de sélection et de mieux cibler les caractères recherchés. DuPont, notamment dans le cadre de son partenariat avec Caribou Biosciences, teste la technologie CRISPR/Cas9 pour obtenir des variétés de maïs résistant à la sécheresse ainsi que des blés hybrides, plus vigoureux et avec de meilleurs potentiels de rendement. Des essais en champ pour tester ces variétés devraient débiter au printemps 2016 pour une éventuelle commercialisation dans cinq à dix ans [11]. Cibus, entreprise californienne, basée à San Diego, n'utilise pas la technique CRISPR/Cas9 mais s'est fortement investie dans les techniques d'édition de génome des plantes. Cette entreprise est la première à avoir obtenue des autorisations de mises sur le marché au cours des deux dernières années aux Etats-Unis puis au Canada pour un colza résistant aux herbicides obtenu à partir de ces techniques, en faisant un acteur incontournable dans ce domaine [14].

Une entreprise du Minnesota, Recombinetics, utilise également la technique CRISPR/Cas9, en lien avec d'autres techniques d'édition du génome, dans le but d'accélérer l'amélioration génétique des troupeaux [15]. Cette entreprise développe plusieurs applications de cet outil sur différents animaux d'élevage. L'une de ces applications porte sur les vaches laitières : le groupe a montré qu'une séquence génétique était associée à la présence de cornes chez les vaches laitières. En permutant cette séquence avec celle des vaches Angus sans corne, la compagnie a ainsi pu obtenir des vaches laitières sans corne, éliminant ainsi les manipulations chimiques ou physiques ayant lieu sur les animaux a posteriori pour enlever ces cornes [16].

Références

- [1] <http://www.france-science.org/L-outil-CRISPR-Cas9-ouvre-la-voie.html>
- [2] <https://www.sciencemag.org/content/350/6264/1101.abstract?related-urls=yes&legid=sci:350/6264/1101>
- [3] <http://munews.missouri.edu/news-releases/2015/1208-pigs-that-are-resistant-to-incurable-disease-developed-at-university-of-missouri/>
- [4] <http://www.nature.com/nbt/journal/vaop/ncurrent/full/nbt.3434.html>
- [5] <http://nar.oxfordjournals.org/content/early/2013/08/31/nar.gkt780.long>
- [6] <http://www.technologyreview.com/news/529181/chinese-researchers-stop-wheat-disease-with-gene-editing/>
- [7] <http://www.nature.com/articles/srep11491>
- [8] <http://phys.org/news/2015-11-scientists-crispr-technology-crop-genes.html>
- [9] http://www.nature.com/news/crop-conundrum-1.19031?WT.ec_id=NATURE-20151217&spMailingID=50271052&spUserID=Nzk5MDYwMDk5ODIS1&spJobID=822569676&spReportId=ODIyNTY5Njc2S0
- [10] <http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/tpj.12413/full>
- [11] <http://www.technologyreview.com/news/542311/dupont-predicts-crispr-plants-on-dinner-plates-in-five-years/>
- [12] <http://www.genengnews.com/insight-and-intelligence/gene-editing-will-change-everything-just-not-all-at-one-time/77900351/>
- [13] <http://www.nature.com/news/salmon-approval-heralds-rethink-of-transgenic-animals-1.18867>
- [14] <http://www.cibus.com/technology.php>
- [15] <http://www.pnas.org/content/110/41/16526.full>
- [16] <https://www.technologyreview.com/s/530416/on-the-horns-of-the-gmo-dilemma/>

Note n°5 sur : **Brevets et propriété intellectuelle liés à CRISPR-Cas9**

Publiée initialement le 22 janvier 2016

Consultable sur <http://www.france-science.org/La-guerre-des-Deux-Roses-a-qui.html>

« La guerre des Deux Roses, à qui appartient CRISPR ? »

Nonobstant les précautions d'usage en la matière, il existe, comme on l'a déjà abondamment indiqué en ces pages [1], une forte présomption pour que l'émergence de CRISPR (*Clustered Regularly Interspaced Short Palindromic Repeats*) constitue une révolution d'une ampleur récemment inégalée dans le domaine de la recherche biomédicale, si l'on en juge par des indicateurs aussi divers que l'évolution du nombre de publications (d'une quinzaine pour 2012 à plus de vingt par semaine en 2015 [2]), le nombre de projets de recherche déposés (plus de 600 l'an dernier rien qu'aux Etats-Unis), l'existence d'un compte Twitter dédié ou l'étendue des champs applicatifs putatifs ouverts (de la résistance à l'oïdium [3] à l'éradication du HIV-1 [4] et du screening métastatique [5] à la –pour le moins polémique- modification génétique des embryons humains [6], voire même des usages au-delà du *gene editing* [7])

Si l'on en juge également par l'ampleur de la controverse qui l'entoure [8].

Quasi mécaniquement, dans un marché du biotech venture capital qui atteint des records historiques [9], les enjeux financiers et économiques liés à une telle révolution sont très importants. Au total, on estime à plus d'un milliard de dollars les investissements en capital réalisés en un an [10]. Dernier avatar significatif en date : le 21 décembre dernier, Bayer a annoncé la création d'un *joint venture* avec *CRISPR Therapeutics* (société fondée entre autres par Emmanuelle Charpentier) dans lequel la société allemande injecte 300M\$ (plus une participation de 35M\$ dans la startup) [11]. Et *Editas Medicine*, dans lequel ont investi entre autres Bill Gates et Google Ventures, vient de lancer son introduction en bourse à hauteur initiale de 100 M\$ le 4 janvier dernier [12].

De manière contre-intuitive, cette course aux armements ne semble que peu freinée par le conflit en cours autour de la propriété intellectuelle liée au CRISPR-Cas9 qui oppose d'un côté Jennifer Doudna et l'UC Berkeley, de l'autre Feng Zhang et le *Broad Institute of Harvard & MIT*.

Tout part de la modification du droit des brevets américains. Jusqu'en 2013, celui-ci se fondait sur la règle du '*first to invent*', le titulaire du brevet étant celui qui pouvait prouver son antériorité dans l'invention de ce qui était breveté. A partir de 2013, l'US PTO bascule sur le principe du '*first to file*', ouvrant ainsi la voie, du fait des délais de traitement variables, à ce qu'un inventeur tardif se voit accorder un brevet au détriment d'un inventeur antérieur.

Dans le cas présent, l'origine du conflit se situe au moment du dépôt original de brevet de Doudna (13/842,859) le 15 mars 2013, soit la veille de l'entrée en vigueur du changement de régime. Le 15 octobre

de la même année, Zhang dépose sa propre demande (14/054,414) mais en arguant d'une priorité remontant à décembre 2012 (soit sous l'ancien régime). Surtout, il l'accompagne d'une requête en examen accéléré, requête acceptée qui lui vaudra l'obtention du brevet le 15 avril 2014. Dès lors, Doudna va consacrer une partie importante de 2014 à peaufiner son dépôt initial [13] en cours d'examen de manière à rattraper sa défaite initiale. En particulier, sa stratégie va se cristalliser par le dépôt d'une '*suggestion of interference*'.

Et la juge administrative Deborah Katz vient le 11 janvier dernier d'accepter de statuer sur cette interférence, dans des attendus [14] assez forts qui indiquent que la charge de la preuve échoit à Zhang et au Broad Institute (lesquels sont les '*junior parties*' alors que Doudna, Charpentier et alii sont considérées comme les '*senior parties*'), mais aussi en se plaçant dans une logique de *winner takes all* qui laisse assez peu de place à la négociation entre les deux parties, un éventuel accord devant de surcroît être approuvé par le PTO et non anti-concurrentiel. Trois juges indépendants vont désormais être nommés pour statuer sur l'interférence. Cependant, la litanie des recours et des appels auxquels il faut s'attendre pourrait faire perdurer ce conflit de droit pendant des décennies, au vu de certains précédents. Le sujet de la propriété intellectuelle d'une technologie médicale parmi les plus prometteuses du siècle risque de rester en question fort longtemps.

Références

- [1] par exemple, <http://www.france-science.org/CRISPR-Cas9-elue-decouverte.html>
- [2] <https://innovativegenomics.org/blog/>
- [3] <http://www.nature.com/nbt/journal/v32/n9/full/nbt.2969.html>
- [4] <http://www.pnas.org/content/111/31/11461.abstract>
- [5] [http://www.cell.com/cell/abstract/S0092-8674\(15\)00204-4](http://www.cell.com/cell/abstract/S0092-8674(15)00204-4)
- [6] <http://link.springer.com/article/10.1007%2Fs13238-015-0153-5>
- [7] typiquement CRISPRi et CRISPRa ; cf. <http://www.theatlantic.com/science/archive/2016/01/the-most-exciting-uses-of-gene-editing-technology-involve-no-editing/422619>
- [8] on passera ici volontairement sous silence la controverse, qui mériterait un article à elle seule, sur les enjeux éthiques concomitants. Pour une amorce de la discussion, cf. https://www.uam.es/personal_pdi/ciencias/jmsierra/documents/Baltimore2015Sci.pdf
- [9] <http://www.pwc.com/us/en/press-releases/2015/venture-capital-investing-exceeds.html>
- [10] <http://media-publications.bcg.com/BCG-New-Era-Precision-Gene-Editing-09Sept15.pdf>
- [11] <http://www.fiercebiotech.com/press-releases/bayer-and-crispr-therapeutics-ag-join-forces-discover-develop-and-commercial>
- [12] <http://www.sec.gov/Archives/edgar/data/1650664/000104746916009534/a2226902zs-1.htm>



[13] lequel comporte deux difficultés : la non-spécificité, contrairement au brevet de Zhang, du ciblage des applications eukaryotiques d'une part ; et d'autre part, le fait que sa co-déposante, Emmanuelle Charpentier, soit elle-même prise dans un système propre de propriété intellectuelle lié à des institutions européennes.

[14]<https://acts.uspto.gov/ifiling/PDFfromDocumentum?No=106048&docTy=NOTICE+TO+DECLARE+INTERFERENCE&action=getContentByDocType>

Note n°6 sur : **Création de startups en lien avec le développement de la technologie CRISPR-Cas9 aux Etats-Unis**

Les enjeux liés aux potentiels commerciaux d'une telle révolution technologique se sont rapidement traduits par une activité économique et financière spectaculaire dans laquelle interviennent de manière de plus en plus agressive *venture capitalists* et géants de l'industrie pharmaceutique :

- Dès fin 2014, *Caribou Biosciences* (la startup de Jennifer Doudna) a licencié sa technologie à une startup intitulée *Intellia Therapeutics* créée pour l'occasion avec Atlas Ventures, dans un premier tour de table à 15M\$. Il s'est suivi en septembre dernier d'un second tour à 70M\$ mené par OrbiMed.

- A Bâle, puis plus tard à Cambridge, Emmanuelle Charpentier a cofondé *CRISPR Therapeutics*, dont elle n'est plus que conseillère scientifique. Après un premier tour de table à 64M\$ en avril dernier, la start-up vient de signer un partenariat avec Bayer (35M\$ de prise de participation et plus 300 M\$ de financement sur 5 ans).

- *Astra Zeneca* a choisi une voie radicalement différente en multipliant les alliances simultanées avec des laboratoires de pointe. La première annonce de collaboration avec le Wellcome Trust Sanger fait en janvier 2015. Deux nouvelles collaborations avec l'*Innovative Genomics Initiative* et le *Broad Institute* ont rapidement suivies.

- *Editas Medicine*, cofondé à Cambridge par Feng Zhang et Jennifer Doudna (avant que cette dernière ne s'en retire du fait de la controverse autour des brevets) a suivi une progression linéaire spectaculaire dans son architecture financière. Un premier tour de 43M\$ très précoce (fin 2013) a été mené par Third Rock Ventures. Un partenariat a ensuite été établi avec *Juno Therapeutics* en mai dernier pour un montant potentiel de 737M\$. Le second tour de 120M\$, qui a eu lieu en août dernier, a impliqué des investisseurs aussi prestigieux que Bill Gates, Google Ventures ou Khosla Ventures. Finalement la société a été introduite en bourse en janvier 2016 à hauteur de 94M\$ pour une valorisation à 571M\$.

Note n°7 sur : la **gestion des problèmes éthiques posés par les techniques d'édition du génome par les autorités américaines**

Publiée initialement le 19 juin 2015

Consultable sur <http://www.france-science.org/Modification-du-genome-humain-la.html>

« Modification du génome humain : la Maison Blanche prend position »

En avril 2015, des scientifiques chinois ont réalisé une première mondiale : ils ont modifié le génome d'embryons humains non viables, grâce à l'outil CRISPR-Cas9 [1-3]. La communauté scientifique avait alors réagi vivement et alerté sur le danger potentiel de toute modification de l'ADN de la lignée germinale, cellules à l'origine des gamètes et dont les mutations peuvent se transmettre à la descendance [4]. Récemment, la Maison Blanche a exprimé son point de vue au sujet de cette controverse à travers une note officielle [5].

Pour la première fois au monde, une équipe chinoise a réussi à modifier l'ADN d'embryons humains. Ces résultats ont été publiés en ligne, en avril 2015, dans le journal *Protein & Cell* et ont relancé le débat sur les implications éthiques de telles manipulations [1,2,4,6]. En mars 2015, des chercheurs américains avaient déjà mis en garde contre toutes les tentatives de modification des cellules germinales, qui auraient pour effet d'altérer l'hérédité humaine en se transmettant à la descendance, et avaient suggéré la mise en place d'un moratoire [7]. Dans l'étude en question, les chercheurs de l'Université de Guangzhou, en Chine, ont tenté de s'affranchir des questions éthiques en utilisant des embryons non viables, résultant d'un ovule fécondé par deux spermatozoïdes. Ils ont essayé de corriger la mutation responsable de la β -thalassémie, une maladie génétique du sang potentiellement létale, en utilisant la technique de génie génétique CRISPR-Cas9 [8]. Le système CRISPR (*Clustered Regularly Interspaced Short Palindromic Repeats*) est naturellement présent chez les bactéries, où il est la base de leur réponse immunitaire, et les biologistes ont su tirer profit de ce système pour permettre la chirurgie ciblée du génome [3]. En effet, le complexe CRISPR-Cas9 permet la modification du génome à une position spécifique et cet outil a déjà été largement utilisé sur des cellules humaines adultes et des embryons d'animaux [9]. Mais, la limite franchie par la récente expérience chinoise est que, si les modifications de l'ADN avaient été effectuées chez un embryon viable, elles se seraient retrouvées dans ses cellules sexuelles et auraient potentiellement pu être transmises à sa future descendance. En outre, la modification de l'embryon humain peut ouvrir la porte à certaines dérives, comme la création de "bébés à la carte" [10].

Le 26 mai 2015, la Maison Blanche a fait connaître sa position concernant la modification du génome des lignées germinales, via une note officielle [5]. Dr. John Holdren, Conseiller du Président pour la Science et la Technologie, a ainsi déclaré que la modification des gamètes humains à des fins cliniques était une ligne à ne pas franchir pour le moment et que les choix faits dans un seul pays peuvent affecter tous les autres

[11]. L'administration américaine a tout de même admis que les avancés du siècle dernier sur les technologies pour la santé ont permis de réduire considérablement la mortalité infantile, d'augmenter l'espérance de vie et de soulager de nombreuses souffrances. Cependant, les nouvelles techniques comportent aussi des risques et des enjeux éthiques qui nécessitent une réflexion approfondie. En effet, les répercussions de la modification génétique des cellules germinales de l'Homme ne pourront être pleinement connues qu'une fois qu'un certain nombre de générations aura hérité de ces mutations [12]. Par ailleurs, il est important de souligner que l'expérience chinoise a été confrontée à de nombreux obstacles techniques. Si le complexe CRISPR-Cas9 clive efficacement le gène cible, l'étape de recombinaison homologue pour la réparation du gène déficient est beaucoup plus critique. Parmi les 71 embryons ayant survécu au stade "huit cellules", 28 embryons présentent un clivage de leur génome au site spécifique, mais seuls 4 embryons ont correctement intégré le nouveau matériel génétique dans leur ADN [2]. Plus grave encore, l'étude révèle un nombre surprenant de mutations ailleurs dans le génome, probablement introduites par l'action non-spécifique du complexe CRISPR-Cas9. Ces mutations indésirables constituent l'un des principaux problèmes puisqu'elles peuvent potentiellement entraîner d'autres pathologies. Les auteurs chinois concluent que leur travail met en évidence la nécessité d'approfondir nos connaissances actuelles sur les mécanismes de réparation de l'ADN chez les embryons humains et d'améliorer la spécificité de la technique CRISPR-Cas9, avant de l'utiliser à des fins cliniques. Cependant, les auteurs n'excluent pas que les difficultés rencontrées soient liées à l'utilisation d'embryons anormaux [1]. Notons tout de même que l'équipe de l'Université de Guangzhou compte continuer ses travaux afin de diminuer les clivages aspécifiques de l'ADN.

Le communiqué de la Maison Blanche intervient une semaine après que la *National Academy of Sciences* (NAS) et sa *National Academy of Medicine* (NAM) ait annoncé qu'ils organiseraient une conférence internationale en automne prochain, à laquelle chercheurs, éthiciens, et autres experts seront réunis pour discuter des conséquences scientifiques, politiques et éthiques de l'utilisation des techniques de génie génétique sur les cellules germinales humaines, à la fois en recherche et pour des applications cliniques [13-15]. Cela n'est pas sans rappeler le sommet BEINGS 2015 qui s'est tenu à Atlanta, en mai dernier, et qui a réuni près de 150 délégués internationaux pour discuter des implications éthiques des biotechnologies cellulaires [16]. La Maison Blanche a fait savoir également qu'elle soutenait l'initiative de la NAS et qu'il était important que ce sommet explore intégralement les conséquences de la modification génétique des cellules germinales sur les générations actuelles et les générations à venir à travers le monde, tout en évaluant le potentiel de technologies alternatives ne nécessitant pas d'altérer les cellules germinales [5].

Références

[1] "Chinese scientists genetically modify human embryos", David Cyranoski et Sara Reardon, *Nature* - 22/04/2015. <http://www.nature.com/news/chinese-scientists-genetically-modify-human-embryos-1.17378>

- [2] Liang, P. et al., 2015. CRISPR/Cas9-mediated gene editing in human tripronuclear zygotes. *Protein Cell* 6, 363-372. <http://link.springer.com/article/10.1007%2Fs13238-015-0153-5>
- [4] "Embryo editing sparks epic debate", David Cyranoski et Sara Reardon, *Nature* - 29/04/2015. <http://www.nature.com/news/embryo-editing-sparks-epic-debate-1.17421>
- [5] "A Note on Genome Editing", John P. Holdren, The White House, Office of Science and Technology Policy - 26/05/2015. <https://www.whitehouse.gov/blog/2015/05/26/note-genome-editing>
- [6] "Scientists genetically modify human embryos in controversial world first", Ian Sample, *The Guardian* - 23/04/2015. <http://www.theguardian.com/science/2015/apr/23/scientists-genetically-modify-human-embryos-in-controversial-world-first>
- [10] "White House : ethics of human genome editing needs further review", Roberta Rampton, *Reuters* - 26/05/2015. <http://www.reuters.com/article/2015/05/26/us-science-embryos-obama-idUSKBN0OB1TF20150526>
- [11] "The White House draws the line against CRISPR/Cas9-designed embryos", John Carroll, *FierceBiotech Research* - 27/05/2015. http://www.fiercebiotechresearch.com/story/white-house-draws-line-against-crispcas9-designed-embryos/2015-05-27?utm_medium=nl&utm_source=internal
- [12] "Gene-Editing : Hold Off For Now, White House Says", Maggie Fox, *NBC News* - 26/05/2015. <http://www.nbcnews.com/health/health-news/gene-editing-hold-now-white-house-says-n364756>
- [13] "White House backs review of gene-editing", *Bioethics News Bot* - 30/05/2015. <https://bioethics.georgetown.edu/2015/05/white-house-backs-review-of-gene-editing-technology/>
- [14] "White House says human gene editing needs further review", Chris Dall, *UnitedHealthcare* - 27/05/2015. <http://www.uhc.com/bmtn-categories/bmtn-news/2015/05/27/white-house-says-human-gene-editing-needs-further-review>

Note n°8 sur : la **rencontre avec Jennifer Doudna (UC Berkeley)**

Publiée initialement le 3 mars 2016

Consultable sur <http://www.france-science.org/Jennifer-Doudna-co-decouvreuse-de.html>

«Jennifer Doudna, co-découvreuse de la technologie CRISPR/Cas9 »

Le 17 février, le Service pour la Science et la Technologie a rencontré Jennifer Doudna, professeur à UC Berkeley et co-découvreuse de la technologie CRISPR/Cas9 (en collaboration avec la française Emmanuelle Charpentier du Max Planck Institute for Infection Biology à Berlin). Cette technologie permet non seulement de modifier le génome de n'importe quelle espèce, facilement et à moindre coût, mais également le développement d'approches inédites en ingénierie génétique, aux retombées potentielles immenses. Trois types d'enjeux ont été abordés lors de l'entretien.

Enjeux éthiques et réglementaires

Une grande partie des controverses actuelles autour de CRISPR/Cas9 a trait aux potentielles études sur les embryons humains. Sur ce sujet, Jennifer Doudna participe aux discussions ayant lieu actuellement au plus haut niveau du côté étatsunien. Rappelant les prises de positions de la Maison Blanche, puis du Congrès ayant interdit l'utilisation de crédits fédéraux dans l'édition du génome d'embryons humains, elle a insisté néanmoins sur la nécessité d'atteindre rapidement un consensus réglementaire afin de donner un cadre éthique et légal à ces recherches. En effet, à l'heure actuelle, si les fonds d'origine fédérale sont exclus de tels projets, une équipe de recherche peut théoriquement utiliser des fonds d'une autre nature, sans enfreindre la législation. D'une façon plus large, quel que soit le champ d'application, Jennifer Doudna appelle de ses vœux une responsabilité générale des équipes impliquées, afin d'éviter que le législateur n'intervienne trop tôt, sous la pression citoyenne.

Enjeux scientifiques

Selon le Pr. Doudna, les enjeux scientifiques les plus importants liés à CRISPR/Cas9 concernent l'administration ciblée au niveau des différents tissus biologiques d'une part, et la maîtrise du mécanisme naturel de réparation de l'ADN mis à contribution dans cette méthode d'autre part. L'efficacité de CRISPR/Cas9 sera en effet accrue lorsque les chercheurs maîtriseront précisément l'étape de réparation faisant suite à la coupure de brin réalisée par la protéine Cas9, assurant ainsi la reproductibilité à l'identique de l'opération dans chaque cellule. Son laboratoire à UC Berkeley travaille aujourd'hui activement à la résolution de ces deux défis.

Le Pr. Doudna a également participé à la création de l'Innovative Genomics Initiative. Cet institut regroupe plusieurs laboratoires issus de UC Berkeley, UCSF, et Stanford, afin d'assurer la collaboration académique et industrielle, indispensable au transfert de ces percées scientifiques vers le système de santé publique.

Enjeux économiques

Pour Jennifer Doudna, le potentiel économique de cette technologie est immense, avec trois champs majeurs d'applications : thérapeutiques, agro-alimentaires (modification des plantes et des animaux d'élevage à des fins de protection contre les différentes infections), et en biologie de synthèse (production de biocarburants ou de produits chimiques environnementalement inertes).

D'après elle, les premiers produits à arriver sur le marché devraient concerner des indications thérapeutiques, notamment pour les pathologies oculaires ou les maladies du sang, pour lesquelles l'administration est plus aisée. D'autres pathologies, comme les dystrophies musculaires ou la maladie de Huntington sont également des candidats intéressants. Elle estime que nous devrions voir de premiers essais cliniques utilisant CRISPR/Cas9 d'ici un à deux ans, pour des traitements disponibles d'ici cinq à sept ans au plus tôt.