

L'édition du génome : une vraie technologie de rupture

Par Hervé CHNEIWEISS

Médecin neurologue, président du Comité d'éthique de l'INSERM

Il est fréquent que des découvertes scientifiques fassent la une de l'actualité et que les médias, avides de sensations fortes, nous annoncent une nouvelle révolution. Mais la réalité pratique d'une telle configuration est rare. Rare parce que les découvertes qui amènent à un changement de paradigme sont elles aussi peu répandues. Et si elles le sont, c'est parce que le passage d'une découverte académique à une application technologique est long, difficile et peu souvent couronné de succès. C'est à l'une de ces révolutions technologiques que nous assistons actuellement, avec la nouvelle maîtrise de modifications ciblées du génome grâce au système CRISPR-Cas9 et à ses dérivés.

Qu'est-ce qu'éditer le génome ?

Dans son principe de base, l'ingénierie du génome (ou l'« édition du génome », traduit ainsi de l'anglais *genome editing*) consiste à ajouter, à enlever ou à modifier une ou quelques bases nucléiques dans une séquence d'ADN. Si la séquence correspond à un gène, la conséquence en sera la modification d'expression de ce gène, cette modification étant soit son « invalidation » (perte de fonction, *knock-down*), soit la modification de la séquence protéique de la protéine que ce gène code et, dans certains cas le changement d'activité, de localisation ou de durée de vie ou, au contraire, la correction d'une fonction altérée, selon le contexte biologique. Nous verrons que le système CRISPR-Cas9 permet cette modification ciblée du génome et même la modulation ciblée de l'expression des gènes.

La stratégie utilisée n'est pas nouvelle : il y a longtemps que les chercheurs essaient de mettre au point des techniques permettant de cibler une séquence précise du génome. Une de ces techniques qui est connue depuis plus de vingt ans est celle de la « recombinaison homologe », et d'autres approches utilisant des enzymes appelées méganucléases ont permis de nombreuses découvertes.

L'effervescence de la communauté scientifique, depuis 2012, tient au fait qu'une nouvelle technique, appelée CRISPR (*clustered regularly interspaced short palindromic repeat*), est venue détrôner toutes les autres approches, et ce, pour quatre raisons : sa précision, sa rapidité, sa fiabilité et son faible coût. C'est indiscutablement une « révolution » technologique, avec des enjeux économiques énormes.

Chacune de nos cellules porte au sein de son noyau notre patrimoine génétique sous la forme d'un double brin d'ADN, la fameuse « double hélice » longue d'un mètre environ et constituée de trois milliards de paires de lettres bases nucléiques symbolisées par leurs initiales (ATGC : adénine, thymine, guanine et cytosine).

Ce long ruban organisé en paires de chromosomes est fragile et subit donc de fréquentes cassures, sur l'un ou l'autre de ses brins, liées en particulier au stress oxydatif associé à la production d'énergie dans la cellule.

Mais deux puissants systèmes de réparation veillent et corrigent ces cassures : le système de jonction d'extrémités non homologues (NHEJ) et le système par recombinaison homologe dirigée (HDR).

Le NHEJ agit vite mais n'est pas très fiable pour une restauration *ad integrum*. Fréquemment, il oublie une lettre ou en écrit une ou deux de trop ou fait une faute d'orthographe. Le résultat sera que le gène « réparé » présentera soit une délétion, soit une insertion indésirable, soit une mutation. Dans les deux premiers cas, la protéine codée par le gène ne peut plus être exprimée. Dans le troisième cas, sa fonction sera altérée. Le système HDR est très fiable, mais peu actif et lent, et il a besoin de prendre modèle sur la séquence correcte.

Le CRISPR-Cas9 est en quelque sorte un « ciseau moléculaire » qui est capable d'induire une cassure double brin de l'ADN, en un site choisi du génome.

Il faut pour ce faire, d'une part, le ciseau (une enzyme nucléase) qui coupe les deux brins d'ADN, ici Cas9, et un guide, qui reconnaisse la séquence à couper (ici, il s'agit d'un ARN-guide homologue à la séquence que l'on veut cibler).

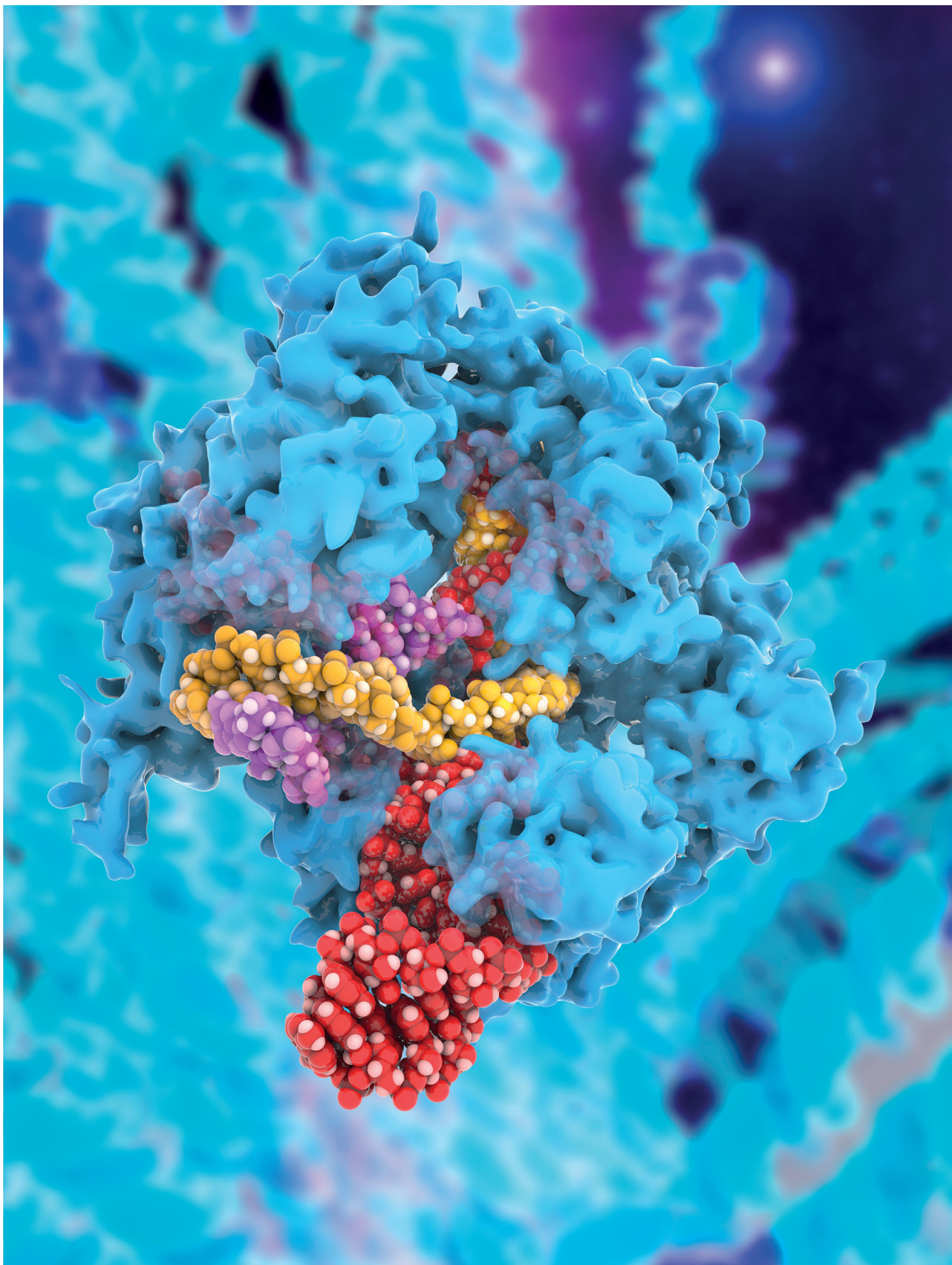


Photo © Ramon Andrade- 3DCiencia/SPL- PHANIE

Structure moléculaire de l'enzyme CRISPR-Cas9 utilisée pour modifier le génome de cellules animales ou végétales.

« Le CRISPR-Cas9 est en quelque sorte un “ciseau moléculaire” qui est capable d’induire une cassure double brin de l’ADN, en un site choisi du génome. »

Si l'idée initiale est d'invalider l'expression du gène, il suffit en général de laisser faire le système de réparation, à savoir le système de jonction d'extrémités non homologues (NHEJ). La cassure sera alors mal réparée et le gène « réparé » sera inefficace.

Si l'objectif est de corriger une mutation préexistante, il faudra que la réparation rétablisse une séquence « normale » après la cassure du gène muté et, pour cela, on introduira une séquence-guide et grâce au HDR la cellule réparera la cassure en copiant la séquence « normale » que l'on aura introduite.

Il en va de même lorsqu'il s'agit d'introduire une mutation mimant un variant du gène.

Contrairement aux techniques précédentes qui étaient très complexes, utiliser le CRISPR-Cas9 ne présente pas de difficulté pour toute personne ayant des connaissances de base en biologie moléculaire, ce qui a pu faire dire à un des premiers développeurs de cette technique, Georges Church, de Harvard, que la technique pouvait « sur un simple coup de tête (*impulsively*) » permettre à n'importe qui de faire à peu près tout... Par exemple, il est possible de modifier simultanément plusieurs cibles. Au-delà de l'ADN, la modification de notre épigénome, en particulier dans un but thérapeutique, devrait théoriquement être réalisable... Les limites ne sont que celles de notre imagination, d'où des milliers d'articles déjà publiés.

De la recherche à son application : le transfert d'une innovation

Une des caractéristiques de la révolution CRISPR est la rapidité de son passage à des applications concrètes, en particulier dans le champ de la clinique médicale humaine (avec des essais en cours pour traiter le HIV/Sida ou pour booster les défenses immunitaires dans certains cas de cancer).

Cette technique suscite aussi beaucoup d'autres espoirs, sur le plan thérapeutique, de guérison de maladies à forte composante génétique, comme les maladies rares et les maladies héréditaires. De ce fait, cette technique intéresse surtout les associations de patients atteints de ces maladies. Avec cette technique, la modification du génome de cellules germinales et de l'embryon devient également accessible. La possibilité de transmission d'une variation génétique aux générations futures est un enjeu éthique.

Mais la technique peut tout aussi bien être appliquée à des animaux ou à des plantes.

Sur les animaux, elle peut être utilisée non seulement pour les rendre plus résistants aux maladies, mais aussi pour augmenter la production de viande en les rendant plus musculeux. En Australie, le CRISPR a aussi été testé pour modifier chez la poule le gène encodant la protéine responsable de l'allergie aux œufs de poule et rendre ainsi les œufs hypoallergéniques. Le débat porte aussi sur l'utilisation de CRISPR-Cas9 sur les moustiques, par exemple sur les *Anophèles* qui transmettent le paludisme. Par la technique du *gene drive* ou « forçage génétique » ⁽¹⁾, on pourrait modifier des milliers de moustiques du genre

Anophèle pour les empêcher d'être vecteurs de parasites soit en les empêchant de porter les parasites susceptibles d'être transmis à l'homme, soit en stérilisant ces moustiques pour les empêcher de se reproduire. Cela devrait permettre d'éradiquer en quelques générations les maladies affectant essentiellement les populations des pays aux économies les plus fragiles.

En ce qui concerne les plantes, la technologie CRISPR-Cas9 va remplacer les techniques OGM et ouvrir sur de nouveaux herbicides et pesticides plus respectueux de l'environnement. On peut rendre la plante résistante à ses maladies classiques (mildiou, par exemple) et/ou la rendre plus productive et/ou mieux adaptée au climat des régions où l'on désire la cultiver.

S'agissant des microorganismes, des scientifiques essaient de modifier le génome de certaines levures pour qu'elles puissent produire des biocarburants.

En conséquence, les enjeux financiers sont devenus énormes, se chiffrant en centaines de millions d'euros déjà investis, et plus d'une dizaine d'entreprises de biotechnologie ont mis sur le marché des produits ou des services dérivés des CRISPR.

Il est important de souligner qu'une bataille économique-juridique se joue actuellement sur la question de la priorité du dépôt de brevets entre la biochimiste généticienne française Emmanuelle Charpentier, aujourd'hui en poste à Berlin (mais qui était en 2012 associée à Jennifer Doudna de l'Université de Californie Berkeley), d'un côté, et l'Américain Feng Zhang (du Broad Institute du MIT-Harvard) et d'autres chercheurs bostoniens, de l'autre. Parallèlement, les unes et les autres ont créé des *start-ups* (Jennifer Doudna a d'ailleurs été l'une des invitées vedettes du Forum économique mondial de Davos, en janvier 2016). Cette guerre des brevets réactive le questionnement sur la brevetabilité du vivant naguère soulevé par la brevetabilité des gènes.

Les enjeux éthiques de l'utilisation des techniques d'édition du génome

Le premier de ces enjeux éthiques réside bien entendu dans la fiabilité de la technique, en particulier dans le risque de modifier un gène non ciblé (effet *off-target*) et dans la stabilité dans le temps des constructions génétiques produites. Les progrès sont très rapides et la technique est de mieux en mieux maîtrisée. C'est donc vers certaines applications qu'il faut faire porter notre attention.

Les questions éthiques associées au guidage de gène sont nombreuses.

Un premier ensemble de ces questions est d'ordre technique. Par exemple, il n'a pas encore été démontré qu'un changement entraîné par une construction « gène d'intérêt CRISPR-Cas9 » persiste sur de nombreuses générations.

(1) Le *gene drive* est une technique de manipulation génétique qui permet de booster la propagation d'une mutation dans une population en relâchant quelques individus génétiquement modifiés dans leurs populations naturelles.

Pour les moustiques, les travaux de modélisation indiquent que le *gene-drive* devra persister durant vingt générations pour pouvoir se diffuser complètement.

Les questions les plus sérieuses concernent les atteintes à la biodiversité et les mesures possibles de réversibilité en cas d'échappement de la technique. Des virus pourraient transplanter des constructions stérilisantes dans d'autres espèces non pathogènes. Par ailleurs, les larves de moustiques servent de nourriture aux poissons et les moustiques sont d'importants pollinisateurs. Au lieu de viser l'extinction d'une espèce de moustique considérée comme nuisible, une stratégie écologiquement moins inquiétante serait de modifier le génome de l'insecte de sorte à ce qu'il ne puisse plus transmettre l'agent pathogène à l'homme. Mais les chercheurs n'en savent probablement pas encore assez sur le système immunitaire du moustique pour être en mesure de cibler un gène spécifique. Enfin, il existe une question d'acceptabilité. Ce sont les pays du Sud qui sont les premiers concernés, en particulier ceux de l'Afrique Sub-saharienne, et il faudra former les populations locales afin de les impliquer dans les débats et les choix de recourir ou non à cette technologie.

Depuis le début de l'année 2015 et une réunion de quelques généticiens dans la Napa Valley californienne, la discussion principale concerne l'embryon humain (stade une cellule, zygote) et les cellules germinales (précurseurs de l'ovocyte et précurseurs des cellules germinales mâles, les spermatozoïdes), puisque toute modification génétique de ces cellules sera transférée à la descendance.

L'application à l'homme de cette technique conduirait à rediscuter de l'interdiction de toute modification du génome germinale humain, une interdiction qui est très explicite dans la convention d'Oviedo (qui a été signée par la plupart des pays européens, mais pas par les États-Unis ni par de nombreux autres pays, dont la Chine), qui mentionne : « *Une intervention ayant pour objet de modifier le génome humain ne peut être entreprise que (...) si elle n'a pas pour but d'introduire une modification dans le génome de la descendance* ».

La loi française de 1994 dit, quant à elle : « *Aucune transformation ne peut être apportée aux caractères génétiques dans le but de modifier la descendance de la personne* ».

Mais est-il éthique de laisser se transmettre une maladie génétique d'une particulière gravité si nous disposons d'un moyen sûr et efficace d'y remédier ?

La dimension éthique ne se limite pas à l'évaluation utilitariste des risques et des bénéfices : elle soulève aussi une question ontologique. En effet, la temporalité humaine articule l'héritage du passé biologique et social et la projection vers le futur ou l'espoir thérapeutique. De plus, il s'agit non pas ici de bien ou de mal, qui se réfèreraient à un *a priori* ou à un idéalisme, mais de choix de société et de l'articulation entre nature, corporéité et histoire humaine.

Au stade où nous en sommes, il convient donc d'encourager une recherche dont l'objectif est d'évaluer l'efficacité et l'innocuité de la technologie CRISPR dans des modèles expérimentaux pouvant permettre, au cas par cas, de déterminer la balance bénéfices/risques d'une application thérapeutique, y compris éventuellement sur des cellules germinales et l'embryon. Cette information est en effet essentielle pour pouvoir définir dans le futur, ce qui pourrait être autorisé chez l'homme en termes d'approches thérapeutiques. En attendant les résultats de ces évaluations, il faut respecter l'interdiction de toute modification du génome germinale à visée reproductive dans l'espèce humaine et n'appuyer aucune demande de modification des conditions légales avant que les incertitudes concernant les risques aient été clairement évaluées et avant qu'une concertation élargie incluant les multiples partenaires de la société civile ait statué sur ce scénario.

L'un des grands intérêts du débat sur les applications de l'édition du génome, au-delà des immenses espoirs suscités par ses applications, est de mettre en valeur la plasticité du vivant et l'importance de considérer l'impact des applications possibles à l'échelle systémique, c'est-à-dire au-delà de la simple modification chimique et au-delà de la technique. Comprendre les véritables enjeux écologiques et les véritables impacts de cette technique sur l'histoire humaine conduit à placer la science au cœur de la politique, au cœur des choix de la Cité. Les scientifiques sont prêts à tenir toute leur place dans ce débat pour permettre à tout un chacun de faire des choix éclairés.