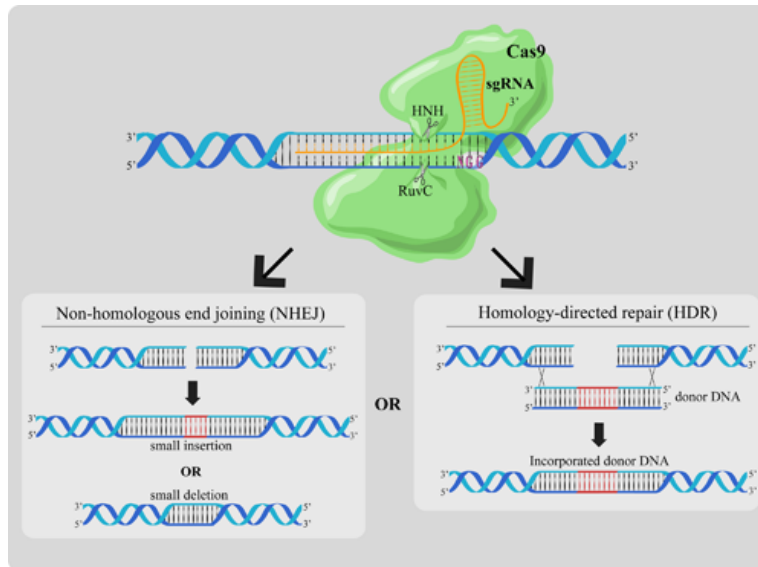


## Expertise scientifique et technique Rapport

En 1978, trois microbiologistes reçoivent le Prix Nobel de médecine pour la découverte des enzymes de restriction : des protéines capables de repérer puis découper des séquences d'ADN. Depuis, le génie génétique n'a cessé de se développer à grande vitesse jusqu'à arriver à des techniques de modification d'ADN aussi précises et performantes que CRISPR/Cas9.

Cas9 n'est rien d'autre qu'une de ces nombreuses enzymes. Chez certains organismes procaryotes (des bactéries), elle est responsable de leur système immunitaire adaptatif de CRISPR (une famille de séquences d'ADN très rependue). L'organisme, attaqué par un virus, arrive à mémoriser les séquences d'ADN de celui-ci. Lorsqu'il est attaqué à nouveau, Cas9 compare l'ADN étranger aux séquences qu'il connaît et, s'il trouve une similarité, le découpe.

Au fil des années, la communauté scientifique a réussi à adapter ce mécanisme aux cellules eucaryotes, et à le simplifier jusqu'à le réduire à seulement deux éléments. Le premier est bien sûr l'enzyme Cas9. Le deuxième est une séquence d'ARN (« single guide RNA » en anglais) qui interagit avec Cas9 pour l'indiquer l'endroit exacte où elle doit couper. Dans la version la plus simple, Cas9 produit une cassure dans les deux brins d'ADN. Elle est réparée par le mécanisme de jonction d'extrémités non homologues (NHEJ en anglais). En général ce mécanisme induit soit une délétion soit un ajout d'ADN pour rendre compatibles les deux bouts à joindre, donc mène possiblement à l'apparition d'une mutation pour le gène concerné si la cassure survient à l'intérieur d'un gène. Un autre mécanisme de réparation plus intéressant est la recombinaison homologue (HDR en anglais), qui utilise une nouvelle molécule donneuse d'ADN (introduite en même temps que Cas9 et la séquence d'ARN) qui sert de modèle pour la réparation. Si cette dernière contient une information différente à la séquence d'ADN coupée, on aura réussi à introduire une modification génétique précise et maîtrisée.



(image de <http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/jbmr.3086/full> )

Des versions plus avancées permettent de viser et découper une plus grande plage des séquences d'ADN. Par exemple, un seul brin voir un seul nucléotide. Les scientifiques ont aussi généré des versions de Cas9, appelées deadCas9 ou d-Cas9, qui ont un rôle différent. Ces enzymes sont fusionnées avec des protéines d'inhibition ou expression des gènes. L'information du gène visé est contenue dans une séquence d'ARN comme pour le Cas9 de base. Ces versions ne feront que s'améliorer au fur et à mesure qu'on arrive à améliorer les algorithmes qui déterminent ce qu'on peut utiliser comme ARN et comment.

Où en sommes-nous aujourd'hui ?

Nombreuses études montrent que la technique CRISPR/Cas9 a déjà été menée à bien à plusieurs reprises : des souris de différentes couleurs, des poissons fluorescents, des chiens plus musculaires... Il est bien sûr possible d'utiliser cette technique chez des humains, comme il a déjà été fait en Chine en 2016 pour combattre un cancer.

Il est important de noter qu'on arrive aussi à utiliser CRISPR/Cas9 dans des embryons, où on cible des cellules germinales pour produire une descendance génétiquement modifiée.

CRISPR/Cas9 n'est pas la première technique de modification génétique apparue. Avant lui, les nucléases à doigt de Zinc (ZNFs en anglais) et TALEN, ont déjà révolutionné la façon de modifier le génome. Cependant

CRISPR/Cas9 présente plusieurs avantages par rapport à ces deux méthodes.

Tout d'abord, la reconnaissance des zones à découper se fait à partir d'une séquence d'ARN, qui est très facilement générée et très flexible, permettant de viser pratiquement n'importe quelle séquence d'ADN à un faible coût. En termes d'efficacité CRISPR/Cas9 est une véritable avancée, grâce notamment à la possibilité d'avoir toute une lignée de souris modifiées à partir de quelques embryons. Les tests peuvent donc se faire beaucoup plus rapidement et sans dépenser beaucoup d'argent. Avec CRISPR/Cas9 il est aussi possible de modifier plusieurs gènes en même temps, ce qui ne pouvait pas être fait avant.

Malheureusement, il existe des contraintes considérables qui demandent une certaine prudence auprès de cette technologie.

Le problème le plus imprédictible est celui des effets de bord. Il peut être difficile de repérer ces cas car il faut analyser tous les bouts d'ADN qui auraient une séquence similaire à celle de l'ARN introduit. Un autre problème est celui de l'hétérogénéité des cellules chez un individu modifié. En effet pas toutes les cellules réalisent le découpage au même moment, donc on a des cellules modifiées et non modifiées qui se développent en même temps. Finalement, il y a une certaine imprédictibilité lorsqu'on répare l'ADN avec NHEJ, ce qui peut provoquer l'apparition de différents allèles d'un même gène au sein de la même souris. Il est donc nécessaire d'attendre plusieurs générations pour obtenir des lignées "pures".

Dans tous les cas CRISPR/Cas9 a un potentiel immense pour guérir beaucoup des maladies, voir aller plus loin, d'ici très peu d'années. Mais comme les propres investigateurs à l'origine de cette technique l'ont dit, nous sommes face à un outil capable de modifier drastiquement notre vie et notre espèce même, donc il faut une grande prudence lors de son implémentation. La communauté scientifique doit arriver à un consensus pour garantir la sécurité de tous.

Aujourd'hui il y a deux courants scientifiques qui se distinguent, qui sont notamment dues aux chocs culturels entre la Chine et les pays occidentaux.

Dans des revues très connues dans le monde scientifique occidentale, comme Science ou Nature, nous pouvons lire des nombreux articles qui préviennent contre l'utilisation de CRISPR/Cas9 dans les embryons et les cellules germinales. Ils argumentent que, à cause des questions éthiques que ces pratiques soulèvent, il se peut que la société développe une opinion négative sur CRISPR/Cas9 alors qu'il peut sauver des vies en modifiant seulement des cellules somatiques. Il s'agit donc ici d'une peur d'un possible frein aux investigations de ce type à cause d'autres recherches indépendantes mais controversées. Par exemple,

l'entité Alliance for Regenerative Medicine (Washington DC), dans cet article de Nature (<https://www.nature.com/news/scientists-sound-alarm-over-dna-editing-of-human-embryos-1.17110>), se positionne contre l'expérimentation sur des cellules germinales. D'autres scientifiques comme George Church (Harvard Medical School, Boston, Massachusetts), sont d'accord pour lancer un moratoire sur l'édition des embryons.

En Chine, au contraire, des lois qui permettent l'utilisation de CRISPR/Cas9 sur des humains ont déjà été approuvées, et les premières expériences ont déjà été réalisées. La raison principale que les scientifiques donnent pour continuer ces recherches, c'est qu'elles ont le potentiel de guérir les maladies héréditaires. Cependant Science et Nature ont refusé de publier ces recherches (« Huang says that the paper was rejected by Nature and Science, in part because of ethical objections », <http://www.nature.com/news/chinese-scientists-genetically-modify-human-embryos-1.17378>). Après ces avancées chinoises, et vu la facilité d'utilisation de CRISPR/Cas9, il devient de plus en plus tentant pour les scientifiques de se plonger dans la modification des embryons. La communauté scientifique doit donc agir rapidement si elle veut mettre fin à cela, ou au moins l'arrêter temporairement jusqu'à obtenir un consensus.

Même si CRISPR/Cas9 est une technique très prometteuse, il reste à voir comment la communauté scientifique mondiale arrive à se mettre d'accord sur les normes de développement et utilisation, pour garantir la sécurité de tous.