

recherche. Dans certains cas, c'était une première, comme dans celui des protozoaires – des organismes unicellulaires dont plusieurs sont responsables de maladies. Les agents du paludisme, de la toxoplasmose, de la leishmaniose, de la trypanosomiase et de la cryptosporidiose ont ainsi été modifiés.

Les pistes de recherche offertes sont multiples : étudier le rôle de gènes dans le développement ou le fonctionnement des organismes, corriger ou reproduire des maladies chez l'animal, introduire de nouvelles propriétés chez les plantes...

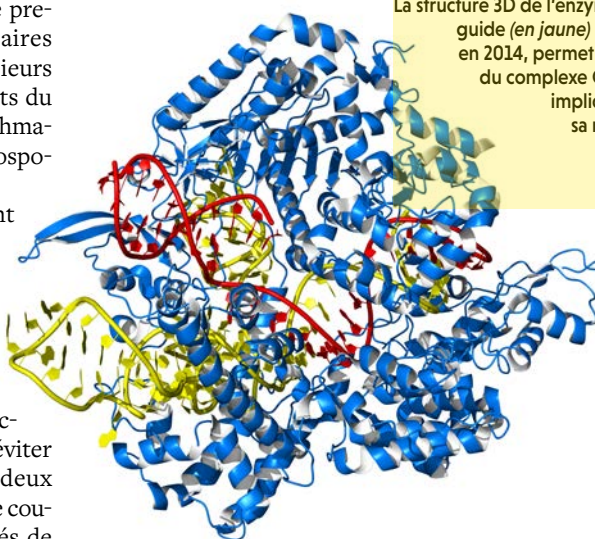
Des biologistes cherchent aussi à perfectionner la technique, notamment pour éviter les erreurs de ciblage. Le recours à deux enzymes Cas9 mutées, chacune capable de couper seulement un des deux brins opposés de l'ADN, a ainsi considérablement réduit le risque d'erreur. La coupure des deux brins n'est obtenue que lorsque les deux enzymes agissent de façon conjointe sur le même site. Quant aux coupures faites séparément par ces enzymes sur un seul brin, la cellule les répare spontanément. Des moyens informatiques ont aussi été développés pour déterminer les séquences cibles les plus spécifiques dans le génome et limiter ainsi le risque de coupures indésirables.

LE COUPLAGE DE CAS9

D'autres chercheurs explorent les possibilités de cibler de nouvelles activités sur l'ADN avec l'enzyme Cas9. En 2014, une équipe a cristallisé le complexe formé par l'enzyme Cas9, son ARN guide et son ADN cible. L'étude de ce cristal a révélé la structure tridimensionnelle de l'enzyme (voir la figure ci-dessus), apportant des précisions qui aident à modifier l'enzyme sans perturber son activité de reconnaissance. Les biologistes peuvent en effet fixer des protéines sur Cas9 pour moduler son activité, par exemple pour l'activer en présence de lumière ou d'une substance chimique.

Même inactivée en tant que nucléase, l'enzyme Cas9 peut encore servir à guider d'autres protéines vers des séquences spécifiques du génome. Par exemple, fixée à un marqueur fluorescent, elle a permis de visualiser des séquences précises dans le noyau cellulaire. Et en la couplant à des protéines qui activent ou répriment la transcription de l'ADN, on est capable de contrôler l'activité de gènes précis *in vivo*.

Les possibilités d'utilisation de l'enzyme Cas9 paraissent illimitées et font déjà l'objet d'un intense développement commercial. En mars 2013, Emmanuelle Charpentier a obtenu le premier brevet pour l'utilisation de l'enzyme avec ARN guide et, depuis, plusieurs brevets ont été publiés pour diverses utilisations du système CRISPR-Cas9. Des start-up, souvent soutenues par de gros laboratoires pharmaceutiques, se sont



La structure 3D de l'enzyme Cas9 (en bleu) associée à son ARN guide (en jaune) et à son ADN cible (en rouge), établie en 2014, permet de positionner, dans la conformation du complexe CRISPR-Cas9, les régions de l'enzyme impliquées dans son activité, ce qui facilite sa modification en vue de perfectionner l'outil sans perturber son fonctionnement de base.

créées afin d'exploiter les multiples possibilités qu'offre ce système pour cibler l'ADN des animaux et des plantes.

Avec le système CRISPR-Cas9, un moyen de transformation efficace, multiple et accessible de l'ADN *in vivo* est apparu. Il arrive à un moment où le séquençage et le décryptage des génomes apportent une foule d'informations génétiques à analyser. Leur étude, directement possible sur les cellules et les organismes avec l'enzyme Cas9, va décupler les moyens de mieux connaître le vivant et ses ressorts génétiques. Les retombées pratiques de ce nouvel outil ne devraient pas tarder ; elles suscitent déjà les questions éthiques liées à l'introduction de toute nouvelle technologie.

Dans le domaine des plantes, notamment, les modifications génétiques ciblées par l'enzyme Cas9 pourront bientôt se faire sans insertion d'ADN étranger autre que la séquence désirée dans les génomes, l'enzyme et ses ARN guides étant introduits dans la cellule puis éliminés par elle. Ces nouvelles plantes ne seront donc plus forcément des plantes transgéniques, c'est-à-dire porteuses dans leur génome d'une séquence d'ADN étrangère à leur espèce. Et elles n'auront plus que des modifications limitées et connues de leur génome, bien plus sûres que celles, chimiques ou radiologiques, obtenues jusqu'à présent par les semenciers.

Dans le domaine animal, des maladies génétiques pourraient être corrigées. À plus long terme, toute cellule et tout organisme seront susceptibles d'être modifiés en utilisant Cas9, ultime étape de la domestication du vivant engagée par notre espèce il y a plus de 10000 ans. La puissance et l'accessibilité de ce nouvel outil de manipulation génétique sont déjà en train de changer les pratiques de la recherche et ouvrent un champ d'expérimentation illimité. Une telle révolution doit s'accompagner d'un cadre législatif simple et clair pour éviter toute dérive qui pourrait porter préjudice aux individus, aux êtres vivants dans la nature ou aux sociétés. ■

BIBLIOGRAPHIE

R. BARRANGOU ET P. HORVATH, A decade of discovery: CRISPR functions and applications, *Nature Microbiology*, vol. 2, 17092, 2017.

D. COX ET AL., Therapeutic genome editing: prospects and challenges, *Nature Medicine*, vol. 21, pp. 121-131, 2015.

K. BELHAJ ET AL., Editing plant genomes with CRISPR/Cas9, *Curr. Opin. Biotech.*, vol. 32, pp. 76-84, 2015.

J. DOUDNA ET E. CHARPENTIER, The new frontier of genome engineering with CRISPR-Cas9, *Science*, vol. 346, 1258096, 2014.

P. HSU ET AL., Development and applications of CRISPR-Cas9 for genome engineering, *Cell*, vol. 157, pp. 1262-1278, 2014.

PATRICK GAUDRAY



« La fiabilité de CRISPR-Cas9 s'améliore, mais la réflexion et le débat n'ont guère progressé »

En quelques mots, comment définiriez-vous le système CRISPR-Cas9 ?

Patrick Gaudray : Mis en évidence chez la bactérie et adapté pour qu'il soit transposable à toute espèce, le système CRISPR-Cas9 permet de modifier une ou plusieurs régions précises du génome de n'importe quelle cellule (voir *Des gènes sur mesure*, par E. Charpentier, page 66). Partout dans le monde, des équipes s'emparent de ce nouvel outil et explorent ses possibilités sur des plantes et des animaux toujours plus nombreux.

BIO EXPRESS

1951
Naissance, à Rouen.

1990
Directeur de recherche au CNRS.

2007
Membre du Comité consultatif national d'éthique.

JUILLET 2019
Publie *Quand la santé fait parler l'ADN... Les promesses et les enjeux éthiques d'une nouvelle révolution médicale*, Symbiose.

Récemment, cette technique a défrayé la chronique, et suscité un tollé mondial, lorsque He Jiankui, généticien à l'université des sciences de Shenzhen, en Chine, a prétendu avoir contribué à la naissance des premiers bébés au monde (des jumeaux) dont le génome a été modifié grâce à CRISPR-Cas9. Il aurait fécondé une femme avec des embryons génétiquement modifiés de façon à ce que la voie moléculaire utilisée par le virus du sida pour infecter les cellules soit désactivée.

Le pionnier dans ce domaine était déjà chinois. En 2015, Junjiu Huang, de l'université Sun Yat-Sen, à Guangzhou, avait le premier utilisé CRISPR-Cas9 sur des embryons humains.