

on part de biobriques, des segments d'ADN remplissant des fonctions définies, et on les assemble dans des dispositifs – des circuits de régulation ou métaboliques –, eux-mêmes insérés dans des cellules qui produiront les fonctions. La bioproduction d'artémisinine en est un exemple.

La deuxième démarche est, à l'inverse, déconstructiviste: on part d'un micro-organisme fonctionnel et on remplace une partie de son génome par un bout de génome de synthèse qui produit la molécule ou la fonction souhaitée. Les biologistes espèrent, à terme, réussir l'opération avec le génome entier, nous y reviendrons. La troisième démarche, enfin, consiste à concevoir et construire des systèmes vivants simplifiés, tels que des protocellules – des vésicules aqueuses fermées par une enveloppe lipidique. Des équipes cherchent aussi à synthétiser de nouveaux nucléotides (les constituants de l'ADN) et acides aminés (les constituants des protéines), jamais observés dans la nature.

Bien que ces approches soient très différentes, elles ont en commun une même volonté: fonder ces recherches sur les prin-

cipes de l'ingénierie, afin de les optimiser, avec l'idée que cela facilitera l'émergence de nouvelles idées et la compréhension du vivant. Qu'est-ce que cela signifie? Les ingénieries de systèmes électroniques ou mécaniques nécessitent des cadres bien établis pour gérer la complexité, des outils fiables pour manipuler les états du système, et des plateformes de tests. La biotechnologie, en revanche, est encore dépourvue de tels cadres, outils et plateformes. Pour mesurer la distance à parcourir, reprenons une à une les propriétés qui caractérisent toute ingénierie. Le projet immédiat de la biologie de synthèse est de raccourcir cette distance.

Une propriété fondamentale de l'ingénierie est le découplage de la conception et de la fabrication: on commence par concevoir les plans d'une voiture ou d'un circuit intégré avant de les fabriquer. Actuellement, pour développer des composants ou circuits biochimiques opérationnels, il faut suivre des protocoles compliqués de construction de fragments d'ADN, user de modèles simples pour guider la conception, et procéder par approxima-

■ L'AUTEUR



François KÉPÈS est directeur de recherche à l'institut de Biologie des Systèmes et de Synthèse (ISSB, Genopole, UEVE, CNRS) et directeur du Programme d'épigénomique à Genopole, à Évry. Il est professeur invité permanent au Collège impérial de Londres.

LA BOÎTE À OUTILS DE LA BIOLOGIE DE SYNTHÈSE

Si, depuis quelques années, il est possible de développer l'ingénierie rationnelle des systèmes biologiques, c'est grâce aux techniques visant à modifier les génomes. Dans le passé, ces méthodes étaient limitées à l'insertion ou à la mutation de gènes soit en des sites aléatoires, soit en des points précis du génome. Les quelques méthodes disponibles pour

diriger les modifications de génomes avaient plusieurs défauts, en particulier une faible efficacité et un coût élevé en main-d'œuvre. L'essor de la biologie de synthèse s'appuie sur plusieurs progrès récents qui ont considérablement accru les capacités d'intervention dirigée et de combinaison des modifications génétiques. Voici les principaux outils utilisés aujourd'hui.



LES RECOMBINASES sont des enzymes qui permettent d'insérer de longs fragments d'ADN dans le génome en des sites spécifiques.



CERTAINS INTRONS DE GROUPE II sont des éléments génétiques « égoïstes » qui s'incorporent eux-mêmes dans l'ADN hôte *via* une molécule intermédiaire d'ARN.



LES NUCLÉASES à doigts de zinc ou à domaines TAL sont des protéines dont la séquence peut être manipulée afin de cibler une séquence particulière d'ADN. Cette activité de fixation spécifique peut être associée à une autre, telle que le clivage de l'ADN ou l'interaction avec une autre protéine.



L'INGÉNIERIE RECOMBINOGÈNE fait appel aux propriétés des virus bactériens [les phages] pour effectuer des recombinaisons ciblées du génome, c'est-à-dire y insérer des gènes en des endroits précis.



LES NUCLÉASES GUIDÉES par ARN du type CRISPR offrent plus de flexibilité que les précédentes. Les CRISPR naturels sont des systèmes immunitaires bactériens dégradant l'ADN étranger de virus. On les utilise dans nombre d'organismes pour effectuer des modifications dirigées par des molécules d'ARN conçues sur mesure.



LE GÉNIE GÉNÉTIQUE EN MULTIPLEX permet d'incorporer simultanément dans la même cellule plusieurs fragments d'ADN en différents points ciblés de son chromosome. Dans la méthode MAGE, le ciblage est effectué grâce à des fragments d'ADN que la cellule assimile à des intermédiaires de la réplication du génome lors de la division cellulaire. Ces fragments se retrouvent ainsi incorporés dans le génome.

tions successives suivies d'interminables réglages fins. En conséquence, le cycle de conception, fabrication et dépannage de composants et circuits biochimiques reste lent et sujet à erreurs.

Il s'agirait, dans le futur, de concevoir l'objet virtuel et de tester ses propriétés avant de le construire. Durant l'époque intermédiaire que nous vivons actuellement, ces deux phases de conception puis de fabrication, bien que distinctes, doivent en général être réitérées en raison de l'imperfection des modèles utilisés. En ce cas, les résultats des tests sur l'objet fabriqué servent à recalibrer le modèle plus près de la cible. En somme, une spirale d'amélioration passant alternativement par la conception et la fabrication doit être instaurée pour parvenir à un résultat satisfaisant.

La conception comprend la mise en place d'un modèle mathématique; sa simulation numérique permet de modifier les paramètres jusqu'à obtenir le résultat souhaité. La fabrication comprend la construction du circuit de synthèse respectant les paramètres ainsi obtenus. La construction fait appel au génie génétique de l'ADN codant les biomolécules nécessaires (*voir l'encadré page ci-contre*); puis les molécules et circuits ainsi construits sont caractérisés par des tests adéquats.

Des modules biologiques indépendants

Une deuxième propriété fondatrice de l'ingénierie est l'indépendance du contexte ou orthogonalité: chaque composant électronique fonctionne de la même façon quel que soit le circuit auquel il est intégré. Dans la cellule vivante, les interactions des composants de synthèse et cellulaires sont difficiles à prédire ou à caractériser. Un circuit bien caractérisé dans une bactérie fonctionnera différemment dans une autre souche, même si elle est proche. Cela ne respecte pas le principe d'indépendance d'un circuit de synthèse par rapport à son contexte (ici cellulaire). De nombreux travaux visent à diminuer cette dépendance vis-à-vis du contexte. Un exemple en est l'introduction répétée d'isolateurs transcriptionnels de part et d'autre des gènes introduits dans la cellule. Les isolateurs sont de courtes séquences d'ADN ayant pour effet de terminer la transcription une fois que celle des gènes d'intérêt a été effectuée, afin de ne pas «contaminer» l'expression d'un gène voisin.

Au-delà de l'indépendance par rapport au contexte cellulaire se pose la question de la modularité, qui mesure l'indépendance entre les divers composants du circuit de synthèse introduit dans la cellule. La biologie de synthèse se propose de constituer des systèmes (nanoparticule, cellule) par assemblage de dispositifs (oscillateur, interrupteur, etc. *voir l'encadré page 33*), eux-mêmes réalisés à partir de briques (fragments d'ADN, protéines, ARN). La fabrication d'un objet fondé sur la biologie, ou inspiré par elle, devient donc un processus hiérarchique d'assemblage de modules. Idéalement, les propriétés de chaque module ne devraient pas dépendre du circuit de synthèse dans lequel il est immergé. Tout praticien de la biologie moléculaire sait que cet objectif est aujourd'hui lointain. Néanmoins, chaque progrès sur ce chemin sera porteur d'améliorations pour le biologiste.

Enfin, dans la dimension hiérarchique et modulaire décrite ci-dessus, la biologie de synthèse exige une normalisation des composants, nécessaire pour permettre leur assemblage en dispositifs, puis l'assemblage de ces dispositifs en systèmes. On est cependant encore loin d'atteindre une norme unique stabilisée: récemment encore, de nouveaux standards ont été proposés. De plus, il s'agit de normaliser non seulement les composants, mais aussi les dispositifs et la production biologique, sans oublier les systèmes hybrides qui combinent nanobiologie et nanoélectronique.

La normalisation concerne aussi la dimension mathématico-informatique de la biologie de synthèse. En général, deux familles de formalismes sont utilisées pour exprimer les questions scientifiques: les équations différentielles et les approches booléennes. Dans le premier cas, chaque interaction entre deux biomolécules peut être représentée par une équation différentielle qui définit la dépendance entre leurs concentrations, c'est-à-dire l'évolution après un délai court des concentrations de ces molécules dans la cellule. Souvent, la même molécule intervient dans plusieurs interactions, et sa concentration se retrouve donc dans plusieurs équations. On dit alors que les équations sont couplées. Le jeu consiste à intégrer ces équations couplées pour calculer au prochain pas de temps les nouvelles concentrations de toutes les biomolécules. On trace ainsi l'évolution temporelle de ces concentrations, c'est-à-dire le «comportement» du système.

■ BIBLIOGRAPHIE

N. Annaluru *et al.*, **Total synthesis of a functional designer eukaryotic chromosome**, *Science*, vol. 344, pp. 55-58, 2014.

K. M. Esvelt et H. H. Wang, **Genome-scale engineering for systems and synthetic biology**, *Mol. Syst. Biol.*, vol. 9, pp. 641-657, 2013.

C. J. Paddon *et al.*, **High-level semi-synthetic production of the potent antimalarial artemisinin**, *Nature*, vol. 496, pp. 528-532, 2013.

F. Képès, **La biologie de synthèse plus forte que la nature ?** Le Pommier, 2011.

W. Weber et M. Fussenegger, **Emerging biomedical applications of synthetic biology**, *Nature Reviews Genetics*, vol. 13, pp. 21-35, 2011.

D. G. Gibson *et al.*, **Creation of a bacterial cell controlled by a chemically synthesized genome**, *Science*, vol. 329, pp. 52-56, 2010.

■ SUR LE WEB

Informations générales sur la biologie de synthèse : www.biologie-de-synthese.fr

Observatoire français de la biologie de synthèse : biologie-synthese.cnam.fr