

UN EXEMPLE DE CIRCUIT GÉNÉTIQUE

Une concentration élevée d'acide urique dans le sang peut entraîner une maladie, la goutte [des dépôts d'acide urique se forment dans les articulations, la peau, les reins...]. Des biologistes de l'École polytechnique fédérale de Zurich, en Suisse, ont conçu un circuit génétique pour contrôler et réguler en permanence cette concentration. Celui-ci fonctionne chez la souris.

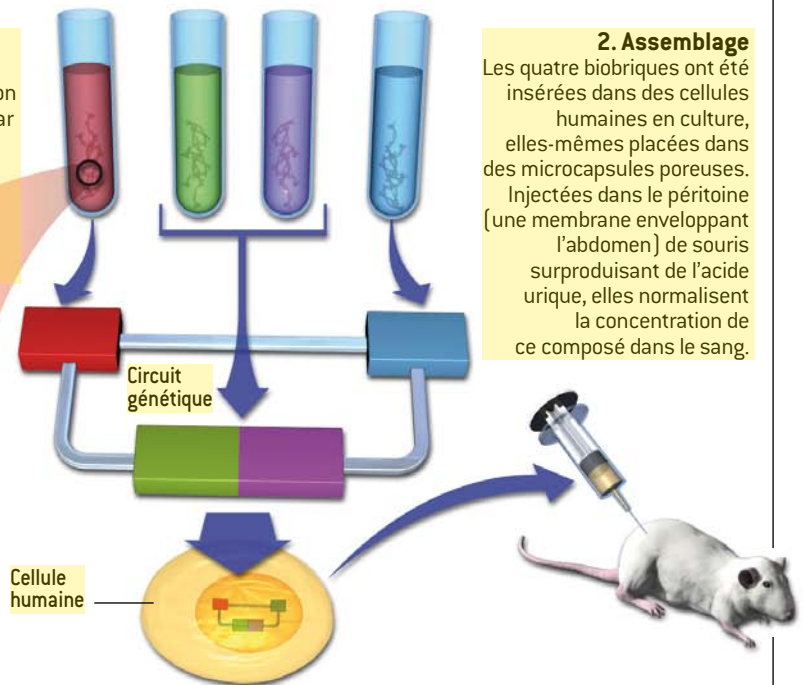
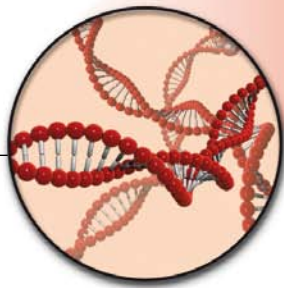
1. Choix des composants du circuit

Les biologistes sont partis de quatre biobriques : un gène sensible à l'acide urique, le « capteur », et son ligand (*en rouge et en vert*, produits naturellement par une bactérie, *D. radiodurans*), le gène d'une oxydase (*en violet*), une enzyme de synthèse utilisée en médecine qui catalyse la conversion de l'acide urique (en allantoine), et le gène humain d'un transporteur d'acide urique (*en bleu*).

2. Assemblage

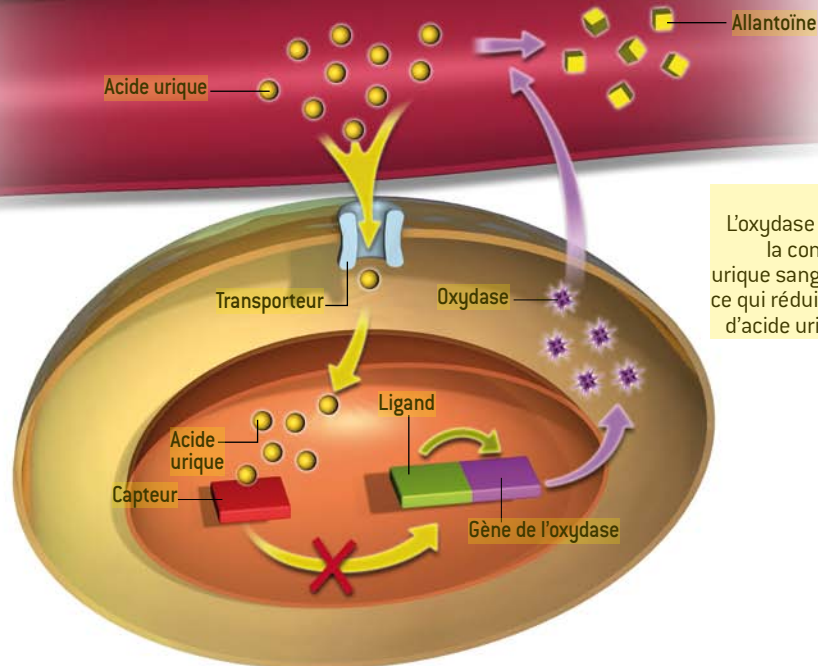
Les quatre biobriques ont été insérées dans des cellules humaines en culture, elles-mêmes placées dans des microcapsules poreuses. Injectées dans le péritoine (une membrane enveloppant l'abdomen) de souris surproduisant de l'acide urique, elles normalisent la concentration de ce composé dans le sang.

Biobrique
génétique



3. Transport

Les cellules modifiées expriment le transporteur d'acide urique (*en bleu*). Une partie de l'acide urique (*en jaune*) en excès dans le sang pénètre ainsi dans la cellule. L'acide urique entre dans le noyau de la cellule, où il se lie au « capteur » (*en rouge*).



5. Catalyse

L'oxydase produite catalyse la conversion de l'acide urique sanguin en allantoine, ce qui réduit la concentration d'acide urique dans le sang.

4. Régulation

En se liant à son « capteur » (*en rouge*), l'acide urique l'empêche de se fixer à son ligand (*en vert*). Or le ligand, lorsqu'il n'est pas masqué par le capteur, agit comme un déclencheur (un promoteur) de l'expression de l'enzyme oxydase (*en violet*). En d'autres termes, le capteur régule l'expression de l'enzyme oxydase : quand il se fixe à son ligand, l'expression de l'enzyme est bloquée, et inversement.

En quête d'un génome minimal

Un des grands projets de la biologie de synthèse est la création d'un génome minimal – un génome qui ne contiendrait que les gènes nécessaires au fonctionnement de la cellule qui l'héberge, et ceux qui produiront les fonctions biologiques souhaitées.

L'intérêt d'utiliser un génome réduit est multiple. D'une part, cela diminuerait le coût énergétique de la réplication du génome lors de la division cellulaire. D'autre part, l'ADN codant les fonctions synthétiques pourrait être inséré à la place libérée.

Enfin, certaines séquences du génome, dites recombinogènes, sont connues pour favoriser les recombinaisons génétiques. En les retirant, on diminue le risque que le génome subisse des

modifications spontanées. Plusieurs équipes sont impliquées dans la conception et la fabrication de tels génomes réduits. Ainsi, la société américaine *Scarab Genomics* commercialise des souches de colibacille dont l'ADN a été réduit de 15 pour cent, notamment par élimination des séquences recombinogènes. Cette société a été fondée en 2002 par Fred Blattner, dont l'équipe séquença le premier génome de colibacille.

À l'Université Johns Hopkins, aux États-Unis, Jef Boeke (aujourd'hui à l'Université de New York) et Joel Bader ont lancé le projet Sc2.0 d'un génome synthétique d'une cellule eucaryote, la levure de bière *Saccharomyces cerevisiae*. À ce jour, un chromosome a été synthétisé entièrement. Là aussi, les séquences recombinogènes ont été supprimées. En revanche, des séquences ont été introduites pour induire à volonté de nombreux réarrangements aléatoires de morceaux de chromosome. Il est donc possible de disposer d'un génome stable, mais, par un simple stimulus, d'induire son évolution accélérée. Ensuite

les variants issus de cette évolution peuvent être sélectionnés sur un critère quelconque.

En 2010, l'Institut américain J. Craig Venter a publié la synthèse chimique du génome d'une bactérie, un mycoplasme (environ un million de paires de nucléotides). Introduit dans une souche cousine, ce génome était toujours fonctionnel : les cellules obtenues étaient capables de se diviser. Cette prouesse technique ouvre la voie à des génomes totalement synthétiques. En revanche, la séquence synthétisée était une copie quasi identique de la version naturelle. À l'évidence, le chemin sera encore long avant de pouvoir concevoir *de novo* un génome...

d'une dizaine de réactions. C'est le cas du circuit de bioproduction de l'artémisinine. Comment briser ce plafond pour construire des circuits biochimiques plus complexes et augmenter d'autant les possibilités de la biologie de synthèse ?

Pour une part, ce plafond tient à notre incapacité à concevoir un génome complet. Pour étendre fortement la taille et la complexité des circuits, il faudrait pouvoir introduire un nombre arbitraire de gènes qui coopéreraient de façon optimale selon un cahier des charges fixé par avance. Cela sous-entend de connaître l'ensemble des contraintes qui pèsent sur les génomes naturels des hôtes envisagés – une levure ou une bactérie, par exemple. La version modifiée de ce génome devrait non seulement tenir compte de ces contraintes, mais en tirer parti pour optimiser les circuits de synthèse.

Concevoir un génome *ab initio*

Plusieurs équipes se sont ainsi lancées dans des recherches visant à synthétiser ou à réduire des génomes complets d'organismes unicellulaires. C'est le cas, par exemple, de l'équipe de l'Institut J. Craig Venter, à Rockville aux États-Unis, et de celle de Fred Blattner, de l'Université du Wisconsin, à Madison, pour les bactéries,

ou encore de celle de Jef Boeke et Joel Bader, de l'Université Johns Hopkins, à Baltimore, pour la levure (voir l'encadré ci-dessus).

Ces travaux représentent des tours de force techniques. Paradoxalement, ils soulignent aussi les carences dans notre capacité à concevoir *ab initio* un génome. Par exemple, le génome de mycobactérie synthétisé par l'équipe de J. Craig Venter est quasi copié du génome naturel. C'est pourtant bien la conception à l'échelle du génome et non la copie qui permettra d'agrandir la taille et la complexité des circuits biochimiques, la synthèse d'ADN permettant ensuite de réaliser ce génome à façon.

Dans mon équipe, nous cherchons précisément à exploiter les contraintes connues des génomes de micro-organismes pour la conception *ab initio* de génomes porteurs de grands circuits de synthèse. En particulier, nous avons observé que les gènes qui fonctionnent ensemble (par exemple parce qu'ils sont régulés par les mêmes protéines) ne sont pas disposés au hasard le long des génomes. Au contraire, on les retrouve côte à côte ou à intervalles périodiques. Ces schémas semblent optimiser l'expression des gènes. Ce type d'observation conduit à proposer de respecter ces schémas « naturels » lors de l'insertion de gènes co-fonctionnels dans des chromosomes microbiens – une donnée

qui devrait aider à augmenter la complexité des circuits.

On le voit, la biologie de synthèse n'est pas simplement un nouveau domaine de la biologie. Elle apporte un vaste socle méthodologique et conceptuel, ainsi qu'un état d'esprit nouveau en biotechnologie. Construire un système biologique qui fonctionne comme prévu est une façon de s'assurer que l'on a compris les phénomènes sous-jacents. En ce sens, la biologie de synthèse permet de faire progresser les connaissances sur le monde vivant. L'approche de l'ingénieur étant dominante, les applications industrielles ne sont cependant jamais loin.

Le potentiel économique de ces applications est considérable et concerne de nombreux domaines : santé (diagnostic, médicaments), agroalimentaire, environnement (biocapteurs de pollution), énergie (biocarburants), matériaux (biomatériaux « intelligents »), etc. En ouvrant toutes ces possibilités, la biologie de synthèse renouvelle les questions éthiques concernant la responsabilité des hommes à « artificialiser » le vivant. Jusqu'à quel point voulons-nous modifier ou recréer le vivant ? Quelle gouvernance de la biologie de synthèse adopter pour qu'elle corresponde bien à nos attentes ? Il est indispensable que ces questions soient dès maintenant continuellement débattues. ■