

CRISPR-Cas9 – Les ciseaux révolutionnaires de l'ADN: Dr Jekyll ou Mr Hyde ?

Hervé Seitz

IGH (UMR 9002 CNRS et université de Montpellier)

Café des sciences d'Avignon, 25 avril 2018

Diaporama accessible au téléchargement sur :
<http://www.igh.cnrs.fr/equip/Seitz/CdS18.pdf>

L'édition du
génom

Un système
immunitaire
bactérien

Un couteau suisse
moléculaire

Un outil trop
efficace ?

L'édition du génome

Le but : une modification contrôlée du génome.

L'édition du
génome

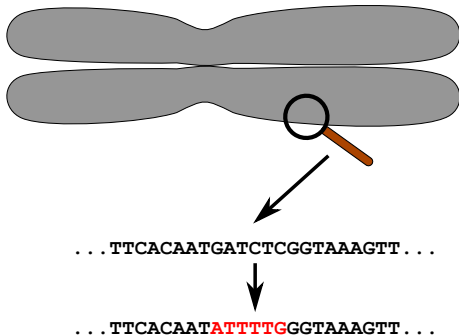
Un système
immunitaire
bactérien

Un couteau suisse
moléculaire

Un outil trop
efficace ?

L'édition du génome

Le but : une modification contrôlée du génome.



L'édition du
génom

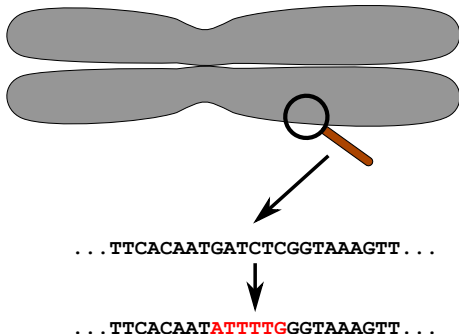
Un système
immunitaire
bactérien

Un couteau suisse
moléculaire

Un outil trop
efficace ?

L'édition du génome

Le but : une modification contrôlée du génome.



Principe : couper l'ADN au site-cible, et fournir à la cellule un ADN-modèle pour la réparation.

L'édition du
génome

Un système
immunitaire
bactérien

Un couteau suisse
moléculaire

Un outil trop
efficace ?

L'édition du génome

 ADN coupé




ADN rabouaté

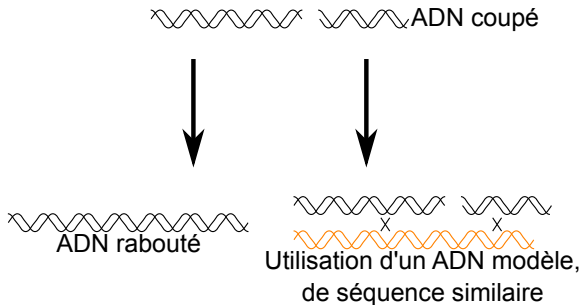
L'édition du
génomé

Un système
immunitaire
bactérien

Un couteau suisse
moléculaire

Un outil trop
efficace ?

L'édition du génome



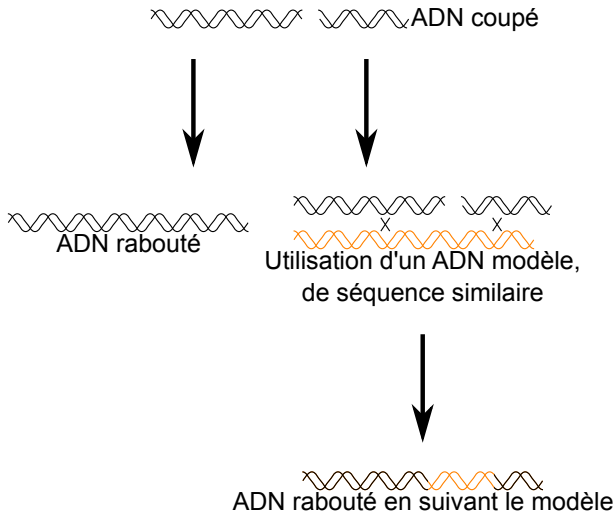
L'édition du génome

Un système immunitaire bactérien

Un couteau suisse moléculaire

Un outil trop efficace ?

L'édition du génome



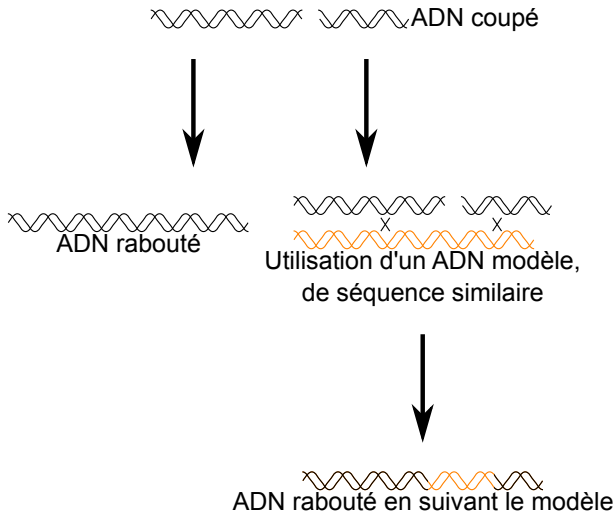
L'édition du
génom

Un système
immunitaire
bactérien

Un couteau suisse
moléculaire

Un outil trop
efficace ?

L'édition du génome



→ La « recombinaison homologue ».

L'édition du génome

Un système immunitaire bactérien

Un couteau suisse moléculaire

Un outil trop efficace ?

L'édition du génome

Comment couper le génome à l'endroit désiré ?

L'édition du
génome

Un système
immunitaire
bactérien

Un couteau suisse
moléculaire

Un outil trop
efficace ?

L'édition du génome

Comment couper le génome à l'endroit désiré ?

- ▶ Avec des enzymes naturelles, qui coupent des séquences peu fréquentes, les « méganucléases » (cibles génomiques limitées!).

L'édition du
génome

Un système
immunitaire
bactérien

Un couteau suisse
moléculaire

Un outil trop
efficace ?

L'édition du génome

Comment couper le génome à l'endroit désiré ?

- ▶ Avec des enzymes naturelles, qui coupent des séquences peu fréquentes, les « méganucléases » (cibles génomiques limitées!).
- ▶ En créant des enzymes artificielles, qui reconnaîtraient la séquence ciblée, les « zinc finger nucleases » ou les « TALENs » (difficile!).

L'édition du
génome

Un système
immunitaire
bactérien

Un couteau suisse
moléculaire

Un outil trop
efficace ?

L'édition du génome

Comment couper le génome à l'endroit désiré ?

- ▶ Avec des enzymes naturelles, qui coupent des séquences peu fréquentes, les « méganucléases » (cibles génomiques limitées!).
- ▶ En créant des enzymes artificielles, qui reconnaîtraient la séquence ciblée, les « zinc finger nucleases » ou les « TALENs » (difficile!).

Tant que d'autres outils n'étaient pas disponibles, l'édition du génome restait peu utilisée.

L'édition du
génom

Un système
immunitaire
bactérien

Un couteau suisse
moléculaire

Un outil trop
efficace ?

Un système immunitaire bactérien

L'édition du
génom

Un système
immunitaire
bactérien

Un couteau suisse
moléculaire

Un outil trop
efficace ?

Un système immunitaire bactérien

Les bactéries sont elles-mêmes menacées par des pathogènes : des virus, et des ADN invasifs.

L'édition du
génome

Un système
immunitaire
bactérien

Un couteau suisse
moléculaire

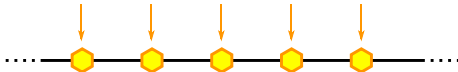
Un outil trop
efficace ?

Un système immunitaire bactérien

Les bactéries sont elles-mêmes menacées par des pathogènes : des virus, et des ADN invasifs.

Années 1980 et 1990 : des bactéries contiennent des séquences répétées (*Clustered Regularly Interspaced Short Palindromic Repeats*), séparées par des espaceurs non-répétés.

La même séquence, répétée en copies régulièrement espacées



L'édition du
génome

Un système
immunitaire
bactérien

Un couteau suisse
moléculaire

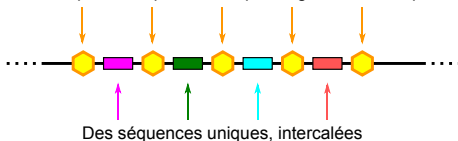
Un outil trop
efficace ?

Un système immunitaire bactérien

Les bactéries sont elles-mêmes menacées par des pathogènes : des virus, et des ADN invasifs.

Années 1980 et 1990 : des bactéries contiennent des séquences répétées (*Clustered Regularly Interspaced Short Palindromic Repeats*), séparées par des espaceurs non-répétés.

La même séquence, répétée en copies régulièrement espacées



L'édition du
génome

Un système
immunitaire
bactérien

Un couteau suisse
moléculaire

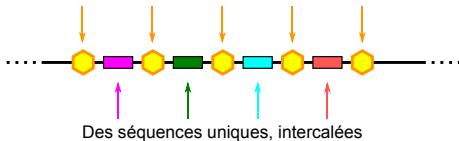
Un outil trop
efficace ?

Un système immunitaire bactérien

Les bactéries sont elles-mêmes menacées par des pathogènes : des virus, et des ADN invasifs.

Années 1980 et 1990 : des bactéries contiennent des séquences répétées (*Clustered Regularly Interspaced Short Palindromic Repeats*), séparées par des espaceurs non-répétés.

La même séquence, répétée en copies régulièrement espacées



2005 : les espaceurs non-répétés sont des fragments de séquences de virus et d'ADN invasif.

L'édition du
génom

Un système
immunitaire
bactérien

Un couteau suisse
moléculaire

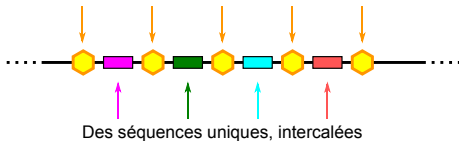
Un outil trop
efficace ?

Un système immunitaire bactérien

Les bactéries sont elles-mêmes menacées par des pathogènes : des virus, et des ADN invasifs.

Années 1980 et 1990 : des bactéries contiennent des séquences répétées (*Clustered Regularly Interspaced Short Palindromic Repeats*), séparées par des espaceurs non-répétés.

La même séquence, répétée en copies régulièrement espacées



2005 : les espaceurs non-répétés sont des fragments de séquences de virus et d'ADN invasif. Un rôle protecteur contre ces pathogènes ?

L'édition du génome

Un système immunitaire bactérien

Un couteau suisse moléculaire

Un outil trop efficace ?

Un système immunitaire bactérien

On peut contrôler la résistance d'une bactérie à un virus en modifiant la séquence des espaceurs des CRISPR (2007).

L'édition du
génome

Un système
immunitaire
bactérien

Un couteau suisse
moléculaire

Un outil trop
efficace ?

Un système immunitaire bactérien

On peut contrôler la résistance d'une bactérie à un virus en modifiant la séquence des espaceurs des CRISPR (2007).

Analyse du mécanisme : les ARN des espaceurs sont chargés sur une protéine Cas9, qui détruit les ADN portant la même séquence.

L'édition du
génome

Un système
immunitaire
bactérien

Un couteau suisse
moléculaire

Un outil trop
efficace ?

Un système immunitaire bactérien

On peut contrôler la résistance d'une bactérie à un virus en modifiant la séquence des espaceurs des CRISPR (2007).

Analyse du mécanisme : les ARN des espaceurs sont chargés sur une protéine Cas9, qui détruit les ADN portant la même séquence.

Affinements technologiques : on peut fusionner les ARN requis en un unique « ARN-guide ».

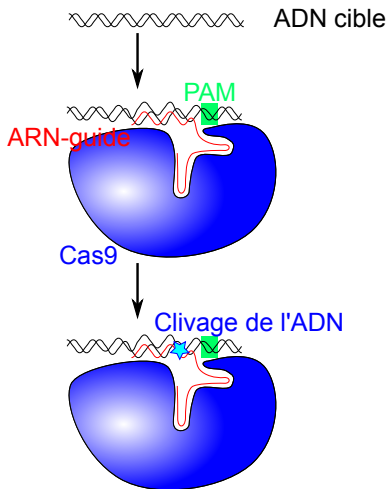
L'édition du
génome

Un système
immunitaire
bactérien

Un couteau suisse
moléculaire

Un outil trop
efficace ?

Un système immunitaire bactérien



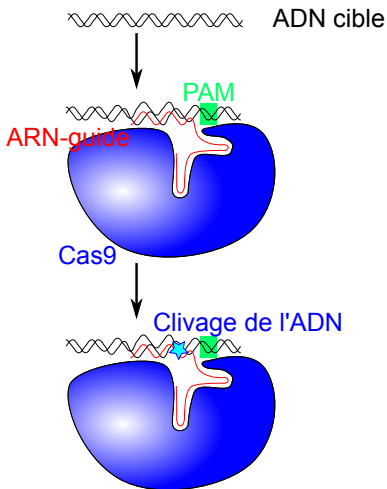
L'édition du
génome

Un système
immunitaire
bactérien

Un couteau suisse
moléculaire

Un outil trop
efficace ?

Un système immunitaire bactérien



—> Une enzyme programmable pour aller couper une région du génome choisie.

L'édition du génome

Un système immunitaire bactérien

Un couteau suisse moléculaire

Un outil trop efficace ?

Un couteau suisse moléculaire

Pour l'édition des génomes : couper à l'endroit désiré, et fournir un modèle d'ADN qui introduira la séquence voulue.

L'édition du
génome

Un système
immunitaire
bactérien

Un couteau suisse
moléculaire

Un outil trop
efficace ?

Un couteau suisse moléculaire

Pour l'édition des génomes : couper à l'endroit désiré, et fournir un modèle d'ADN qui introduira la séquence voulue.

Simplicité d'emploi par rapport aux techniques précédentes ; méthodes d'introduction déjà optimisées (en culture cellulaire et dans l'œuf fécondé).

L'édition du
génome

Un système
immunitaire
bactérien

Un couteau suisse
moléculaire

Un outil trop
efficace ?

Un couteau suisse moléculaire

Pour l'édition des génomes : couper à l'endroit désiré, et fournir un modèle d'ADN qui introduira la séquence voulue.

Simplicité d'emploi par rapport aux techniques précédentes ; méthodes d'introduction déjà optimisées (en culture cellulaire et dans l'œuf fécondé).

Variations sur le thème : une Cas9 incapable de cliver l'ADN peut être fusionnée à des enzymes de modification chimique de l'ADN ou des protéines (« édition de l'épigénome »).

L'édition du
génome

Un système
immunitaire
bactérien

Un couteau suisse
moléculaire

Un outil trop
efficace ?

Un couteau suisse moléculaire

Pour l'édition des génomes : couper à l'endroit désiré, et fournir un modèle d'ADN qui introduira la séquence voulue.

Simplicité d'emploi par rapport aux techniques précédentes ; méthodes d'introduction déjà optimisées (en culture cellulaire et dans l'œuf fécondé).

Variations sur le thème : une Cas9 incapable de cliver l'ADN peut être fusionnée à des enzymes de modification chimique de l'ADN ou des protéines (« édition de l'épigénome »).

→ Un succès rapide en recherche fondamentale.

L'édition du
génome

Un système
immunitaire
bactérien

Un couteau suisse
moléculaire

Un outil trop
efficace ?

Un outil trop efficace ?

L'édition du
génome

Un système
immunitaire
bactérien

Un couteau suisse
moléculaire

Un outil trop
efficace ?

Un outil trop efficace ?

Des craintes sur son utilisation dans l'embryon humain (publié en août 2017 : correction d'une mutation causant une maladie génétique, dans des embryons humains qui sont restés viables après traitement ; <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/28783728>).

L'édition du
génom

Un système
immunitaire
bactérien

Un couteau suisse
moléculaire

Un outil trop
efficace ?

Un outil trop efficace ?

Des craintes sur son utilisation dans l'embryon humain (publié en août 2017 : correction d'une mutation causant une maladie génétique, dans des embryons humains qui sont restés viables après traitement ;

<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/28783728>).

CRISPR/Cas9 permettra-t-il à des laboratoires peu surveillés de produire des êtres humains OGM ?

L'édition du
génom

Un système
immunitaire
bactérien

Un couteau suisse
moléculaire

Un outil trop
efficace ?

Un outil trop efficace ?

Des craintes sur son utilisation dans l'embryon humain (publié en août 2017 : correction d'une mutation causant une maladie génétique, dans des embryons humains qui sont restés viables après traitement ;

<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/28783728>).

CRISPR/Cas9 permettra-t-il à des laboratoires peu surveillés de produire des êtres humains OGM ?

Une modification irréversible des écosystèmes ?

L'édition du
génom

Un système
immunitaire
bactérien

Un couteau suisse
moléculaire

Un outil trop
efficace ?

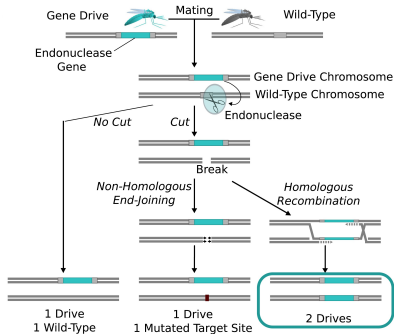
Un outil trop efficace ?

L'édition du
génome

Un système
immunitaire
bactérien

Un couteau suisse
moléculaire

Un outil trop
efficace ?



(tiré de <https://elifesciences.org/articles/03401>)

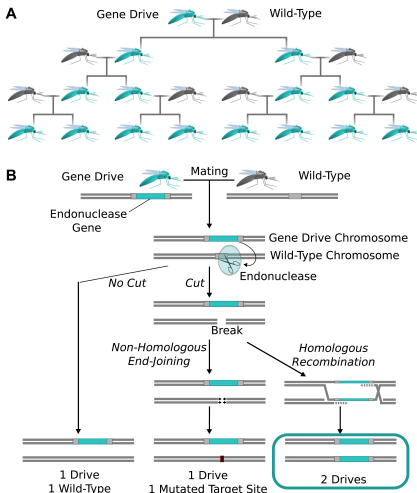
Un outil trop efficace ?

L'édition du
génome

Un système
immunitaire
bactérien

Un couteau suisse
moléculaire

Un outil trop
efficace ?



(tiré de <https://elifesciences.org/articles/03401>)