

CRISPR/Cas9 : de nouveaux ciseaux moléculaires vraiment révolutionnaires ?

Hervé Seitz

IGH (UMR 9002 CNRS et université de Montpellier)

Visiatome de Marcoule, 17 octobre 2019

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

Le génome et l'épigénome

L'édition du génome

Un système immunitaire bactérien

Un couteau suisse moléculaire

Un outil trop efficace ?

Conclusion

Le génome et l'épigénome

Le génome et
l'épigénome

L'édition du
génom

Un système
immunitaire
bactérien

Un couteau suisse
moléculaire

Un outil trop
efficace ?

Conclusion

Le génome et l'épigénome

Le génome et l'épigénome

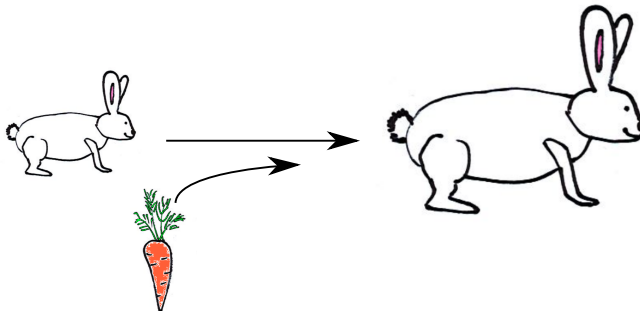
L'édition du génome

Un système immunitaire bactérien

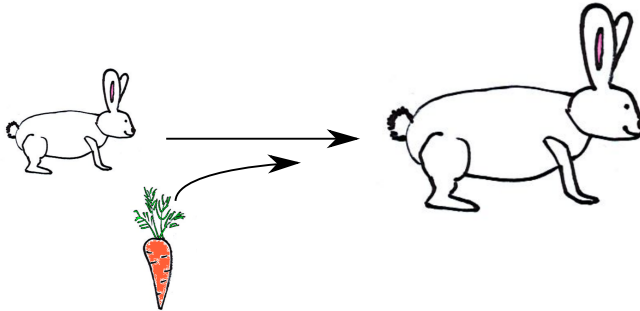
Un couteau suisse moléculaire

Un outil trop efficace ?

Conclusion



Le génome et l'épigénome



L'information génétique est un plan qui permet de fabriquer un organisme vivant.

Le génome et l'épigénome

L'édition du génome

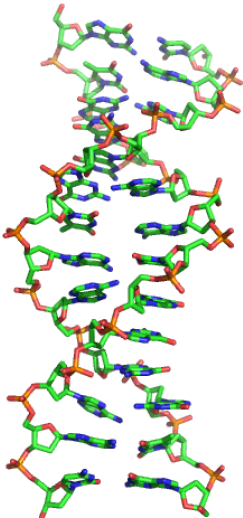
Un système immunitaire bactérien

Un couteau suisse moléculaire

Un outil trop efficace ?

Conclusion

Le génome et l'épigénome



Le génome et
l'épigénome

L'édition du
génome

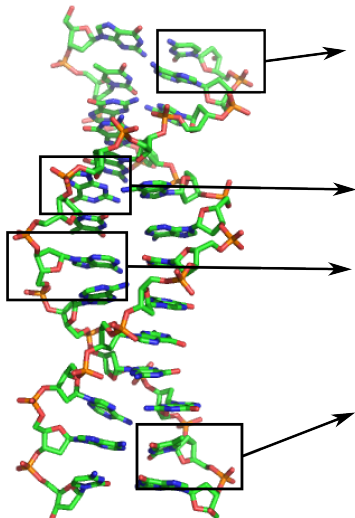
Un système
immunitaire
bactérien

Un couteau suisse
moléculaire

Un outil trop
efficace ?

Conclusion

Le génome et l'épigénome



Le génome et
l'épigénome

L'édition du
génom

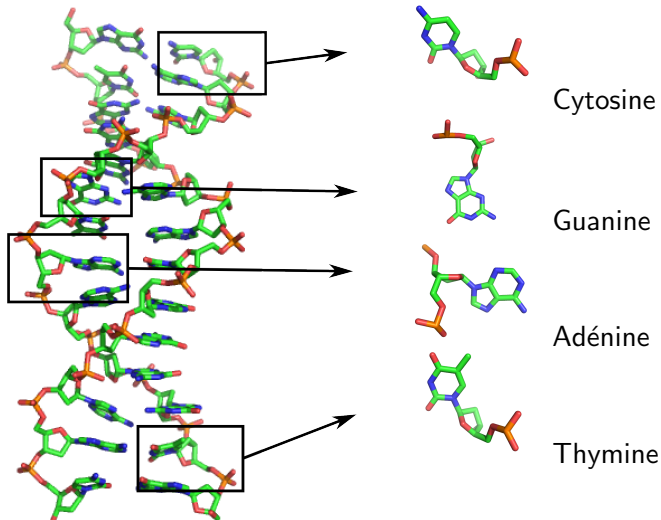
Un système
immunitaire
bactérien

Un couteau suisse
moléculaire

Un outil trop
efficace ?

Conclusion

Le génome et l'épigénome



Le génome et l'épigénome

L'édition du génome

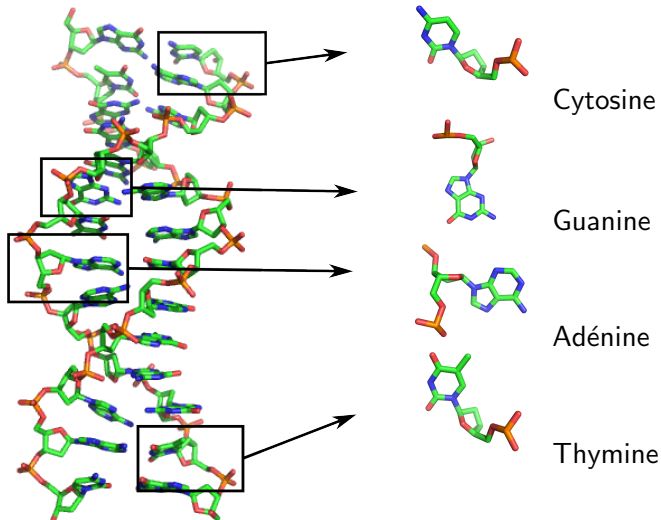
Un système immunitaire bactérien

Un couteau suisse moléculaire

Un outil trop efficace ?

Conclusion

Le génome et l'épigénome



L'information génétique est une séquence de groupements moléculaires le long de l'ADN.

Le génome et l'épigénome

L'édition du génome

Un système immunitaire bactérien

Un couteau suisse moléculaire

Un outil trop efficace ?

Conclusion

Le génome et l'épigénome

Les « gènes » sont des portions de génome.

Le génome et l'épigénome

L'édition du génome

Un système immunitaire bactérien

Un couteau suisse moléculaire

Un outil trop efficace ?

Conclusion

Le génome et l'épigénome

Les « gènes » sont des portions de génome.

Leur expression est modulée par divers mécanismes (notamment des modifications chimiques de l'ADN et des protéines associées : l'« épigénome »).

Le génome et l'épigénome

L'édition du génome

Un système immunitaire bactérien

Un couteau suisse moléculaire

Un outil trop efficace ?

Conclusion

L'édition du génome

Le but : une modification contrôlée du génome.

Le génome et
l'épigénome

L'édition du
génom

Un système
immunitaire
bactérien

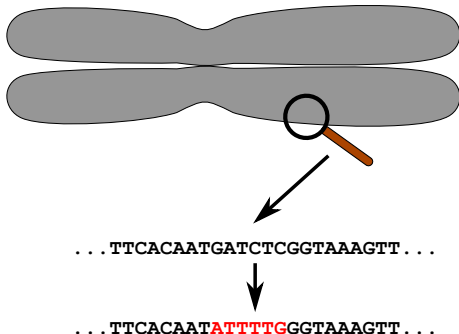
Un couteau suisse
moléculaire

Un outil trop
efficace ?

Conclusion

L'édition du génome

Le but : une modification contrôlée du génome.



Le génome et l'épigénome

L'édition du génome

Un système immunitaire bactérien

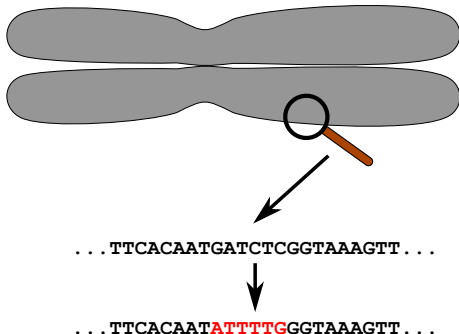
Un couteau suisse moléculaire

Un outil trop efficace ?

Conclusion

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.

Le génome et l'épigénome

L'édition du génome

Un système immunitaire bactérien

Un couteau suisse moléculaire

Un outil trop efficace ?

Conclusion

L'édition du génome

 ADN coupé




ADN rabouté

Le génome et
l'épigénome

L'édition du
génom

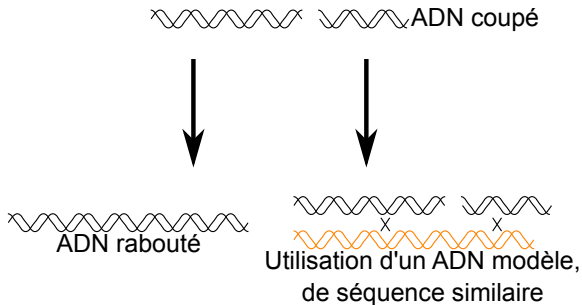
Un système
immunitaire
bactérien

Un couteau suisse
moléculaire

Un outil trop
efficace ?

Conclusion

L'édition du génome



Le génome et l'épigénome

L'édition du génome

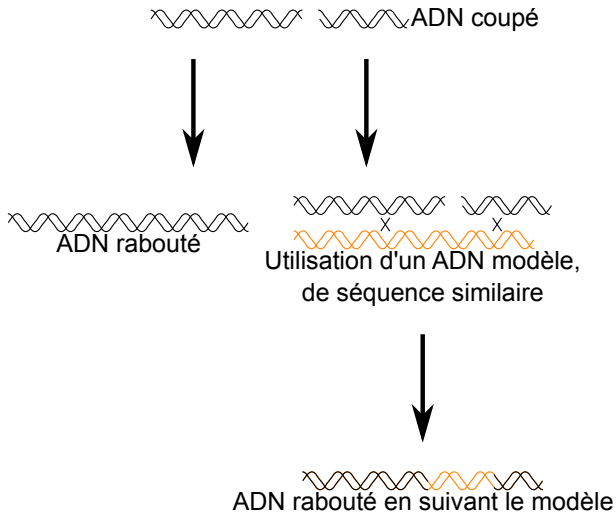
Un système immunitaire bactérien

Un couteau suisse moléculaire

Un outil trop efficace ?

Conclusion

L'édition du génome



Le génome et l'épigénome

L'édition du génome

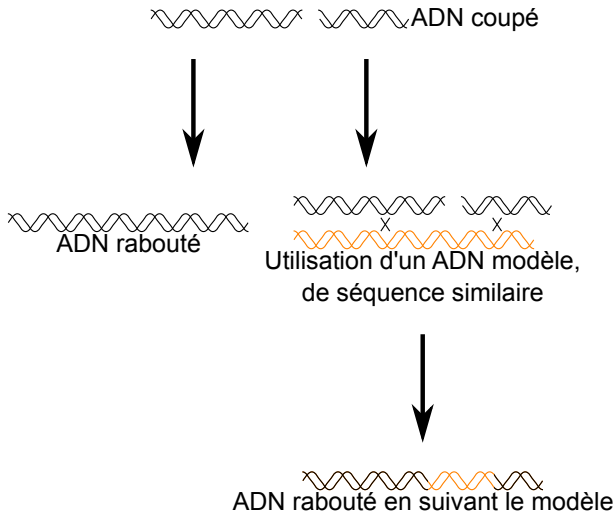
Un système immunitaire bactérien

Un couteau suisse moléculaire

Un outil trop efficace ?

Conclusion

L'édition du génome



→ La « recombinaison homologue ».

Le génome et l'épigénome

L'édition du génome

Un système immunitaire bactérien

Un couteau suisse moléculaire

Un outil trop efficace ?

Conclusion

L'édition du génome

Comment couper le génome à l'endroit désiré ?

Le génome et
l'épigénome

L'édition du
génom

Un système
immunitaire
bactérien

Un couteau suisse
moléculaire

Un outil trop
efficace ?

Conclusion

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!).

Le génome et l'épigénome

L'édition du génome

Un système immunitaire bactérien

Un couteau suisse moléculaire

Un outil trop efficace ?

Conclusion

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!).

Le génome et l'épigénome

L'édition du génome

Un système immunitaire bactérien

Un couteau suisse moléculaire

Un outil trop efficace ?

Conclusion

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.

Le génome et l'épigénome

L'édition du génome

Un système immunitaire bactérien

Un couteau suisse moléculaire

Un outil trop efficace ?

Conclusion

Un système immunitaire bactérien

Le génome et
l'épigénome

L'édition du
génom

**Un système
immunitaire
bactérien**

Un couteau suisse
moléculaire

Un outil trop
efficace ?

Conclusion

Un système immunitaire bactérien

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

Le génome et l'épigénome

L'édition du génome

Un système immunitaire bactérien

Un couteau suisse moléculaire

Un outil trop efficace ?

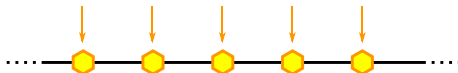
Conclusion

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



Le génome et l'épigénome

L'édition du génome

Un système immunitaire bactérien

Un couteau suisse moléculaire

Un outil trop efficace ?

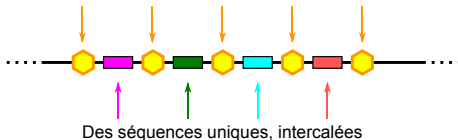
Conclusion

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



Le génome et l'épigénome

L'édition du génome

Un système immunitaire bactérien

Un couteau suisse moléculaire

Un outil trop efficace ?

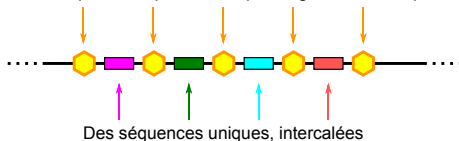
Conclusion

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.

Le génome et l'épigénome

L'édition du génome

Un système immunitaire bactérien

Un couteau suisse moléculaire

Un outil trop efficace ?

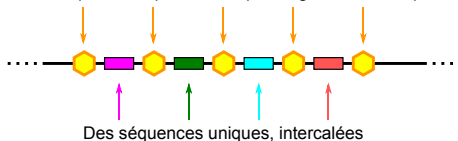
Conclusion

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 ?

Le génome et l'épigénome

L'édition du génome

Un système immunitaire bactérien

Un couteau suisse moléculaire

Un outil trop efficace ?

Conclusion

Un système immunitaire bactérien

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

Le génome et l'épigénome

L'édition du génome

Un système immunitaire bactérien

Un couteau suisse moléculaire

Un outil trop efficace ?

Conclusion

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.

Le génome et l'épigénome

L'édition du génome

Un système immunitaire bactérien

Un couteau suisse moléculaire

Un outil trop efficace ?

Conclusion

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 ».

Le génome et l'épigénome

L'édition du génome

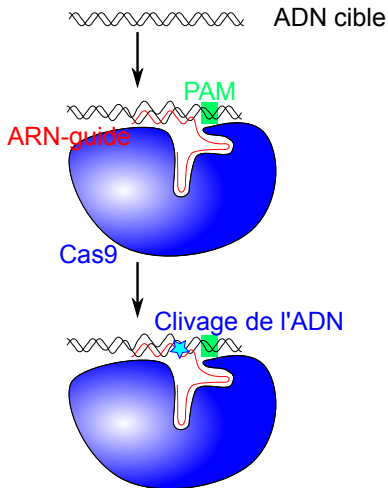
Un système immunitaire bactérien

Un couteau suisse moléculaire

Un outil trop efficace ?

Conclusion

Un système immunitaire bactérien



Le génome et l'épigénome

L'édition du génome

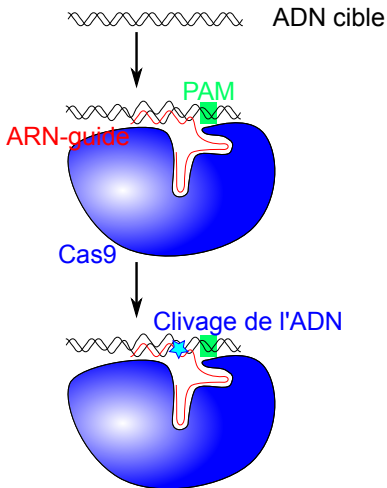
Un système immunitaire bactérien

Un couteau suisse moléculaire

Un outil trop efficace ?

Conclusion

Un système immunitaire bactérien



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

Le génome et l'épigénome

L'édition du génome

Un système immunitaire bactérien

Un couteau suisse moléculaire

Un outil trop efficace ?

Conclusion

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.

Le génome et l'épigénome

L'édition du génome

Un système immunitaire bactérien

Un couteau suisse moléculaire

Un outil trop efficace ?

Conclusion

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).

Le génome et l'épigénome

L'édition du génome

Un système immunitaire bactérien

Un couteau suisse moléculaire

Un outil trop efficace ?

Conclusion

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 »).

Le génome et l'épigénome

L'édition du génome

Un système immunitaire bactérien

Un couteau suisse moléculaire

Un outil trop efficace ?

Conclusion

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.

Le génome et l'épigénome

L'édition du génome

Un système immunitaire bactérien

Un couteau suisse moléculaire

Un outil trop efficace ?

Conclusion

Un outil trop efficace ?

Le génome et
l'épigénome

L'édition du
génome

Un système
immunitaire
bactérien

Un couteau suisse
moléculaire

Un outil trop
efficace ?

Conclusion

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>).

Le génome et l'épigénome

L'édition du génome

Un système immunitaire bactérien

Un couteau suisse moléculaire

Un outil trop efficace ?

Conclusion

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 ?

Le génome et l'épigénome

L'édition du génome

Un système immunitaire bactérien

Un couteau suisse moléculaire

Un outil trop efficace ?

Conclusion

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 ?

Le génome et l'épigénome

L'édition du génome

Un système immunitaire bactérien

Un couteau suisse moléculaire

Un outil trop efficace ?

Conclusion

Un outil trop efficace ?

Le génome et l'épigénome

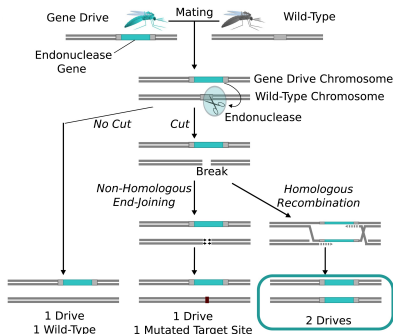
L'édition du génome

Un système immunitaire bactérien

Un couteau suisse moléculaire

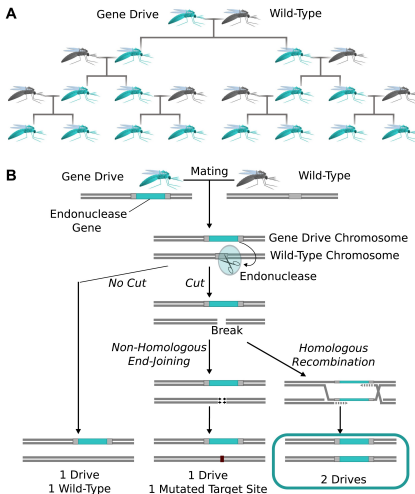
Un outil trop efficace ?

Conclusion



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

Un outil trop efficace ?



Le génome et l'épigénome

L'édition du génome

Un système immunitaire bactérien

Un couteau suisse moléculaire

Un outil trop efficace ?

Conclusion

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

Conclusion

Le génome et
l'épigénome

L'édition du
génome

Un système
immunitaire
bactérien

Un couteau suisse
moléculaire

Un outil trop
efficace ?

Conclusion

Conclusion

Un nouveau type d'enzyme, facilement programmable pour cibler une région génomique d'intérêt.

Le génome et l'épigénome

L'édition du génome

Un système immunitaire bactérien

Un couteau suisse moléculaire

Un outil trop efficace ?

Conclusion

Conclusion

Un nouveau type d'enzyme, facilement programmable pour cibler une région génomique d'intérêt.

Un nouvel outil, rapidement adopté par la communauté scientifique pour explorer les fonctions du génome et de l'épigénome.

Le génome et l'épigénome

L'édition du génome

Un système immunitaire bactérien

Un couteau suisse moléculaire

Un outil trop efficace ?

Conclusion

Conclusion

Un nouveau type d'enzyme, facilement programmable pour cibler une région génomique d'intérêt.

Un nouvel outil, rapidement adopté par la communauté scientifique pour explorer les fonctions du génome et de l'épigénome.

Une simplicité de mise en œuvre et une efficacité qui suscitent des craintes.

Le génome et l'épigénome

L'édition du génome

Un système immunitaire bactérien

Un couteau suisse moléculaire

Un outil trop efficace ?

Conclusion

Conclusion

Un nouveau type d'enzyme, facilement programmable pour cibler une région génomique d'intérêt.

Un nouvel outil, rapidement adopté par la communauté scientifique pour explorer les fonctions du génome et de l'épigénome.

Une simplicité de mise en œuvre et une efficacité qui suscitent des craintes.

Arrêter la recherche ? Trop tard.

Le génome et l'épigénome

L'édition du génome

Un système immunitaire bactérien

Un couteau suisse moléculaire

Un outil trop efficace ?

Conclusion

Conclusion

Un nouveau type d'enzyme, facilement programmable pour cibler une région génomique d'intérêt.

Un nouvel outil, rapidement adopté par la communauté scientifique pour explorer les fonctions du génome et de l'épigénome.

Une simplicité de mise en œuvre et une efficacité qui suscitent des craintes.

Arrêter la recherche ? Trop tard. Mieux vaut s'assurer que les laboratoires publics, contrôlés par des gouvernements raisonnables, gardent le *leadership* de la maîtrise de cette technologie, au cas où elle serait vraiment dangereuse.

Le génome et l'épigénome

L'édition du génome

Un système immunitaire bactérien

Un couteau suisse moléculaire

Un outil trop efficace ?

Conclusion