

DES CISEAUX GÉNÉTIQUES POUR LE CERVEAU

DEROULEMENT DE L'ÉPREUVE :

25 minutes d'interrogation comprenant :

- La lecture du résumé comportant au maximum 10 lignes,
- La lecture des mots clés (5 maximum),
- Un exposé structuré (10 minutes maximum),
- Des réponses aux questions scientifiques posées par les examinateurs à partir du texte.

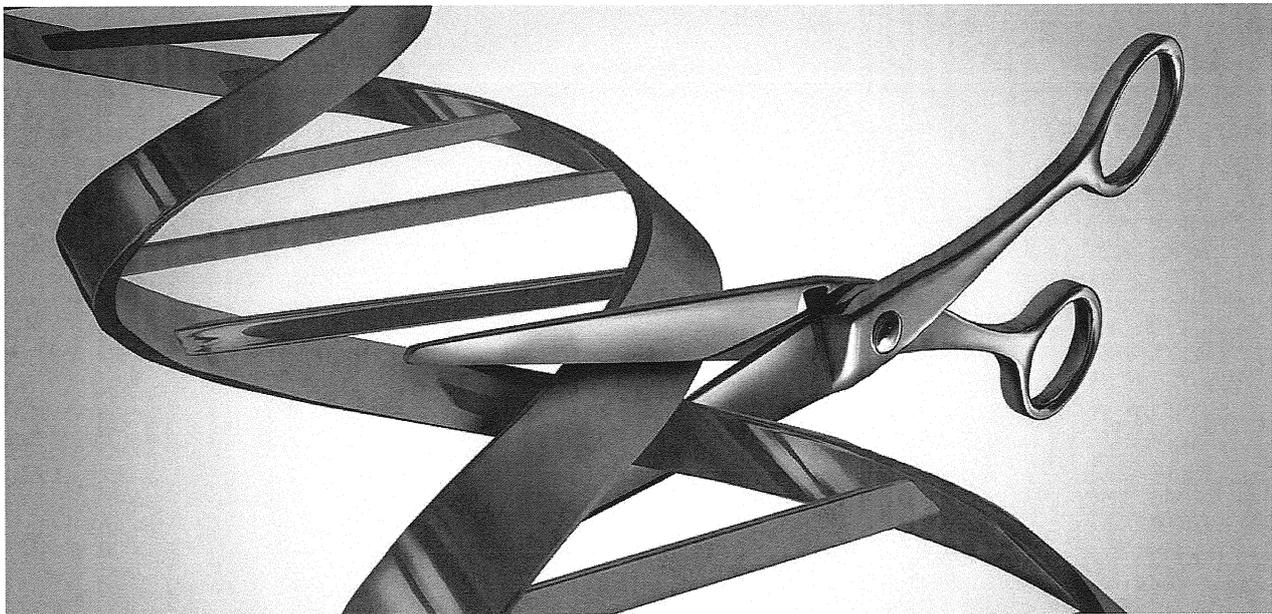
CRISPR-Cas9: des ciseaux génétiques pour le cerveau

Mots-clés

génome édition génomique CRISPR CRISPR-Cas9 ciseaux génétiques ARN ADN Escherichia coli palindrome séquence électroporation nucléase enzyme

Auteur

Léa Galanopoulo est journaliste scientifique indépendante.



En permettant d'intervenir sur l'ADN de manière chirurgicale, les ciseaux génétiques CRISPR-Cas9 ne font pas que révolutionner les techniques d'édition du génome, ils ouvrent aussi des opportunités enthousiasmantes pour l'étude du cerveau.

CRISPR-Cas9... Derrière cet acronyme barbare se cache une innovation révolutionnaire : remplacer un gène par un autre ou le modifier. La méthode paraît presque trop simple, et pourtant elle est le fruit de près de trente ans de recherche. CRISPR-Cas9 (prononcez « crispère ») fonctionne comme des ciseaux génétiques : il cible une zone spécifique de l'ADN, la coupe et y insère la séquence que l'on souhaite.

CRISPR-Cas9 est un complexe formé de deux éléments : d'un côté, un brin d'ARN, de séquence homologue à celle de l'ADN que l'on veut exciser, et de l'autre, une endonucléase, le Cas9. Dans la cellule, le brin d'ARN va reconnaître la séquence homologue sur l'ADN et s'y placer. L'enzyme Cas9 se charge alors de couper la chaîne ADN complémentaire à ce brin ARN. Le trou laissé par le passage du CRISPR-Cas9 pourra alors être comblé par n'importe quel nouveau fragment d'ADN.

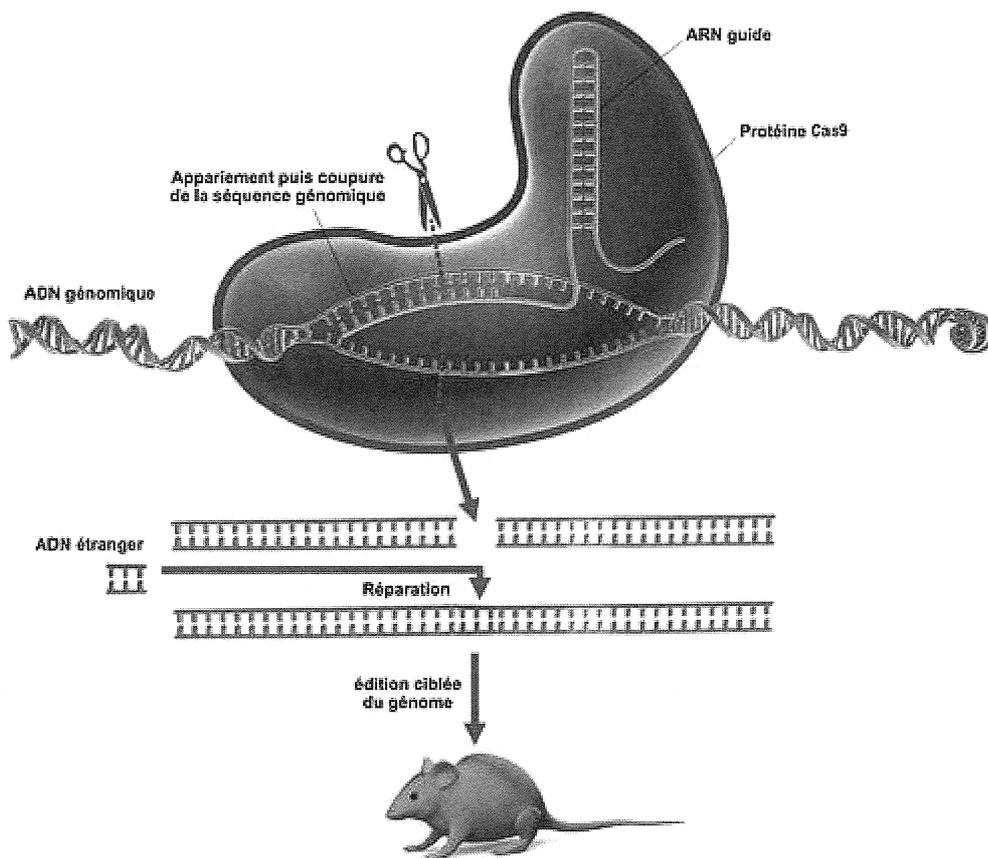


Schéma expliquant les différentes étapes du processus d'édition génomique à l'aide du complexe CRISPR-Cas9. Gunilla Elam / Science Photo Library / Cosmos

« C'est une technique révolutionnaire, certainement l'innovation majeure du XXI^e siècle en biotechnologie ! », s'enthousiasme Jean-Stéphane Joly, directeur de recherche à l'Institut des neurosciences Paris-Saclay[1]. Si CRISPR-Cas9 met le monde scientifique en émoi, c'est qu'il étend les possibilités de retouche génétique à l'infini : supprimer un gène malade, le remplacer par une séquence saine ou encore étudier la fonction précise d'un brin d'ADN, à la molécule près... Aucun secteur de la biologie n'y échappe, et de nouvelles applications sont publiées quotidiennement.

De la recherche fondamentale à la biotechnologie

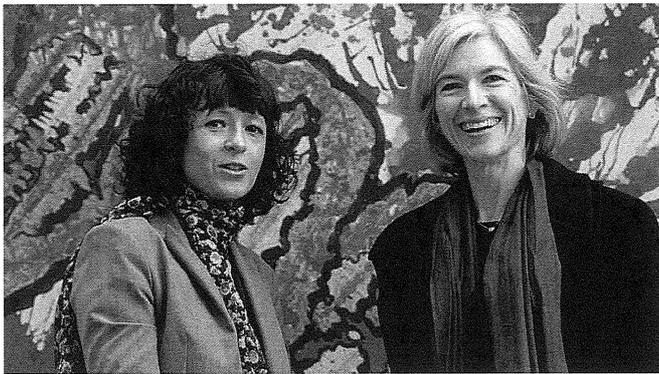
Les origines de la découverte du CRISPR-Cas9 remontent à 1987, lorsque des chercheurs japonais découvrent chez la bactérie *Escherichia coli* des séquences d'ADN dont l'enchaînement des bases (A, C, T, G) se lit de la même manière dans les deux sens : à l'instar des mots « radar » ou « kayak », on parle de palindromes... Le rôle de ces fragments, baptisés CRISPR, pour « courtes répétitions en palindrome regroupées et régulièrement espacées », ne sera finalement mis en lumière que vingt ans plus tard : d'une part quand on constatera que les morceaux d'ADN intercalés entre les palindromes sont souvent des séquences d'ADN de virus, d'autre part quand on montrera que les bactéries porteuses de ces séquences résistent mieux aux infections. L'ARN d'un complexe CRISPR-Cas9 lui permet ainsi de reconnaître et se lier à l'ADN viral présent dans la bactérie, pour ensuite le détruire.

C'est une technique révolutionnaire, certainement l'innovation majeure du XXI^e siècle en biotechnologie.

Dès 2012, les chercheuses Emmanuelle Charpentier et Jennifer Doudna vont s'inspirer de cette réaction immunitaire bactérienne et la détourner pour en faire un véritable outil biotechnologique à la portée de tous.

Supprimer et remplacer l'ADN pour comprendre la logique du cerveau

Cela suscite de nombreux espoirs, et notamment celui d'élucider le fonctionnement du cerveau. L'utilisation des CRISPR démultiplie en effet les possibilités de recherche fondamentale en neurosciences : en coupant un gène précis sur un modèle animal, on peut déterminer plus précisément son rôle, dans le développement du cerveau par exemple. De plus, elle ouvre la voie à de nombreuses applications thérapeutiques. Par exemple, si un gène est incriminé dans une maladie mentale, il devient envisageable, à terme, de l'éliminer, le corriger ou le remplacer avec notre bistouri génétique.



Emmanuelle Charpentier (à gauche) et Jennifer Doudna (à droite) sont les co-inventrices de la technique d'édition génomique utilisant CRISPR-Cas9. MIGUEL RIOPA / AFP

On ne s'étonnera donc pas qu'en neurosciences plusieurs recherches utilisent déjà le CRISPR[2]. C'est notamment le cas des travaux de Jean-Stéphane Joly. « Grâce à l'édition génomique, nous caractérisons avec précision des mutations responsables de la microcéphalie chez le poisson zèbre », explique-t-il. Le chercheur coordonne également le Réseau d'études fonctionnelles chez les organismes modèles (Efor), qui s'appuie entre autres sur l'édition du génome pour construire la carte génétique et phénotypique de nombreux modèles animaux et végétaux.

Dresser la carte d'identité génétique des maladies cérébrales

Tumeurs cérébrales, étude du développement des neurones, autisme... En coupant de simples fragments d'ADN, il devient possible d'établir le profil génétique d'un nombre immense de maladies mentales. D'autant plus qu'elles sont souvent multigéniques. Pour l'autisme, par exemple, plus de 300 variations génétiques ont déjà été identifiées. Seulement, elles ne s'expriment pas toutes de la même façon au niveau des différents neurones. Avec CRISPR-Cas9, il devient possible d'étudier localement ces expressions génétiques. D'ailleurs, les gènes codants pour une protéine ne sont pas les seules parties de l'ADN impliquées dans le développement de troubles. Entre ces parties, il existe des séquences d'ADN régulatrices, que l'on a considérées pendant longtemps comme des déchets génétiques. Or ces parties non codantes jouent en réalité un rôle essentiel dans de nombreuses pathologies. À l'avenir, CRISPR-Cas9 pourrait servir à mieux caractériser le rôle encore largement méconnu de ces fragments.

Une technique simple, rapide et bon marché

Si CRISPR-Cas9 constitue une avancée révolutionnaire, d'autres techniques d'édition du génome existaient avant elle. Frédéric Causeret, chercheur en neurosciences [3], les utilisait auparavant sur ses souris, pour étudier notamment leur développement cérébral. Pourtant, il envisage désormais d'avoir

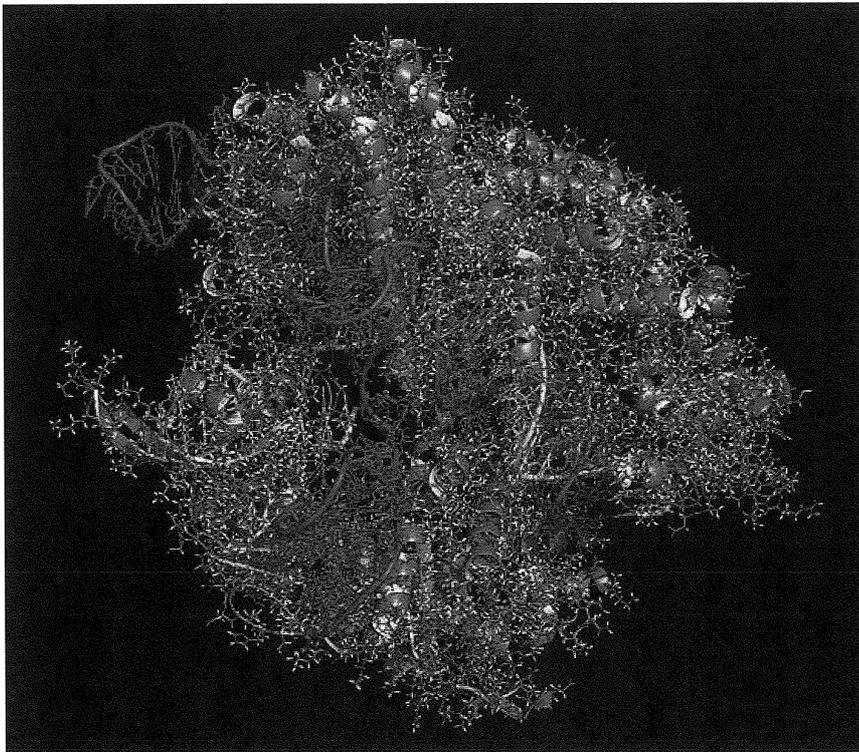
recours à CRISPR-Cas9 dans les mois qui viennent. « *Pour modifier le génome de la souris, nous disposons déjà de la recombinaison homologe. Mais le CRISPR est nettement plus rapide !* », précise-t-il.

Alors qu'avec l'ancienne technique il faut près d'un an pour obtenir une souris avec la mutation souhaitée, le CRISPR permet d'obtenir ces modifications en deux mois à peine. Et à moindre coût ! La manipulation revient au total à quelques milliers d'euros, alors que certaines souris mutantes valent parfois jusqu'à 50 000 euros. « *La technique est très simple à mettre en œuvre, elle nous épargne certaines étapes fastidieuses* », explique Frédéric Causeret.

Le CRISPR-Cas9 suscite les rêves les plus fous notamment parce qu'il permet de supprimer et de remplacer plusieurs gènes en même temps, contrairement aux autres techniques d'édition génétique. « *On va pouvoir générer des modèles de pathologies mentales multigéniques de manière simple et rapide* », prédit Frédéric Causeret. Certaines recherches utilisant CRISPR-Cas9 sont même parvenues à moduler l'expression d'un gène donné, sans avoir à l'éditer lui-même.

L'édition du génome pour tous !

« *Le CRISPR ne va pas changer nos routines, mais nous ouvre des perspectives que l'on n'envisageait même pas car c'était beaucoup trop long* », indique Frédéric Causeret. La technique permet en effet de générer des pertes de fonction génétique extrêmement rapides, sur de nombreuses lignées, ou encore de tracer n'importe quelle protéine dans le cerveau. Pour Jean-Stéphane Joly, cette avancée va révolutionner la biologie ; à l'instar de la méthode d'amplification génique PCR, qui a révolutionné la biologie moléculaire et l'analyse génomique il y a une trentaine d'années. « *Le CRISPR-Cas9, c'est l'iPhone de la biotechnologie* », sourit-il, précisant que l'on verra certainement apparaître dans les années à suivre des centaines de nouveaux brevets.



Représentation moléculaire du complexe CRISPR-Cas9 provenant d'une bactérie «*Streptococcus pyogenes*». molekuul.be / Fotolia

Alors qu'il y a quelques années, l'édition génomique n'était disponible que pour les souris, le CRISPR-Cas9 permet désormais d'éditer le génome de tous les êtres vivants : poisson zèbre, primate, insectes sociaux.... Si les recherches se multiplient, leurs résultats ne sont pour l'instant pas extrapolables à l'homme.

Quels freins à l'application humaine ?

Envisager une application thérapeutique avec le CRISPR-Cas9 pose en premier lieu la question de l'administration. Si, *in vitro*, il suffit d'injecter le mélange dans le noyau, *in vivo*, la tâche reste ardue. En particulier, comment le délivrer jusqu'au cerveau ? « *Chez la souris, nous transférons in utero le matériel génétique dans l'embryon par la méthode dite d'électroporation* », explique Frédéric Causeret.

Mais cette méthode semble difficilement applicable à l'homme. La voie d'entrée des CRISPR pourrait donc se faire grâce à un vecteur viral, à l'instar des thérapies géniques classiques. Enfin, l'inoculation du matériel génétique pourrait aussi avoir lieu après le stade embryonnaire.

« *Dans le cadre de certaines maladies neurodégénératives par exemple, on pourrait envisager une édition du génome chez l'adulte avant l'apparition des premiers symptômes* », imagine Frédéric Causeret.

Néanmoins, pour ces applications humaines, les problèmes éthiques et de sécurité prédominent. Les risques que les CRISPR manquent leur cible sont faibles, mais existent. « *Il suffirait que le CRISPR-Cas9 modifie une séquence qui ressemble beaucoup à celle que l'on cible pour déclencher une catastrophe. Comme si, par erreur, il découpait un gène suppresseur de tumeur par exemple* », précise Frédéric Causeret.

Agronomie, écologie, neurologie... Les applications des CRISPR semblent sans limites. « *Certains pensent par exemple utiliser l'édition génomique pour rendre le moustique stérile et ainsi éradiquer le paludisme. Ou même à empêcher les pommes de terre de noircir !* », explique Jean-Stéphane Joly, ajoutant qu'il faudra strictement contrôler ces modifications génétiques et leur effet sur l'environnement. Une chose est sûre, le CRISPR-Cas9 est loin d'avoir dévoilé toute l'étendue de ses applications. « *À l'évidence, les découvertes sur la réécriture du génome méritent le prix Nobel !* », assure même Jean-Stéphane Joly.

Notes

- 1. Unité CNRS/Univ. Paris Sud.
- 2. Le 24e colloque de la Fondation Ipsen, tenu en avril dernier, était exclusivement consacré à l'édition du génome dans les neurosciences.
- 3. Laboratoire Génétique et développement du cortex cérébral, Institut Jacques Monod (CNRS/Univ. Paris Diderot).