La transgénèse 2.0 avec CRISPR : modification génétique multiple et édition du génome sans laisser de traces

Publié le vendredi 18 décembre 2015
Voir en ligne : https://www.france-science.org/La-transgenese-2-0-avec-CRISPR.html

Outre la possibilité de modifier le génome de n'importe quelle espèce, plus facilement et à moindre coût qu'avec les techniques précédentes, le système CRISPR/Cas9 (voir plus bas) a permis le développement d'approches inédites en ingénierie génétique dont les retombées sont loin de se limiter à la sphère académique.

La mise au point, grâce à ce système, d'un outil qui pourrait permettre de répandre une modification génétique au sein d'une population sauvage au cours de générations successives, en est un exemple récent [1]. D'autres avancées marquantes sont présentées ici : la modification simultanée du génome en plusieurs endroits et la modification précise de la séquence d'un gène, parfois sans laisser de traces.

L'outil CRISPR/Cas9
L'outil CRISPR/Cas9, dont le développement a connu une croissance exponentielle dans les trois dernières années, permet de couper, grâce à une nucléase Cas9, une séquence d'ADN spécifique, reconnue par complémentarité avec un ARN particulier servant de guide. Les mécanismes cellulaires de réparation de l'ADN à cet endroit permettent ensuite d'aboutir soit à l'inactivation du gène ciblé, soit, en association avec l'apport de matériel génétique spécifique, à l'insertion d'une séquence génétique ou à la modification de la séquence existante.

CRISPR et l'ingénierie génétique porcine : des enjeux bio-médicaux et agro-alimentaires
Récemment, des chercheurs de l'équipe de George Church (Université d'Harvard, Wyss Institute) ont utilisé CRISPR/Cas9 pour inactiver les 62 copies d'un gène nécessaire à la transmission de rétrovirus dans des cellules porcines en culture [2]. Cette modification permet de réduire drastiquement la transmission du virus à des cellules humaines *in vitro*. La présence chez le porc de ces rétrovirus endogènes potentiellement transmissibles à l'homme est l'un des obstacles au développement de techniques visant à utiliser des organes de porcs pour des greffes chez l'homme. La preuve de concept *in vitro* de la modification de toutes les copies d'un gène constitue donc une avancée remarquable, même si l'efficacité de cette technique au niveau de l'organisme reste à démontrer.

Une étude récente de chercheurs en sciences vétérinaires de l'Université du Missouri a utilisé CRISPR/Cas9 avec succès pour surmonter les difficultés liées à la transgenèse chez le porc. Ils ont ainsi pu produire très rapidement des animaux dont l'un des gènes nécessaires pour l'infection par un virus (le porcine reproductive and respiratory syndrome virus -PRRSv) était inactivé [3] [4]. Ces porcs sont alors résistants à cette infection qui représente un problème majeur de santé vétérinaire. Les coûts qui y sont associés aux Etats-Unis sont estimés à plus de 600 millions de dollars par an (étude de 2011).

Si les applications médicales et la commercialisation à visée agro-alimentaire semblent encore éloignées, le développement accéléré de méthodes d'ingénierie génétique grâce à CRISPR/Cas9 représente une évolution technologique majeure, surtout pour les nombreuses espèces pour lesquelles on ne disposait pas jusqu'alors

d'outils efficaces, comme dans le cas du porc.

CRISPR et l'inactivation de copies multiples de gènes chez des plantes cultivées
Dans le domaine agronomique, le système CRISPR/Cas9 est utilisé depuis 2013 aux Etats-Unis comme dans d'autres pays, pour modifier génétiquement Arabidopsis thaliana, un modèle majeur en biologie végétale, des espèces de riz, de tabac, de blé, de sorgho, de maïs, de tomate, d'orange,… Cette liste se rallonge constamment [5].

La modification simultanée de plusieurs copies de gènes avec CRISPR/Cas9 est particulièrement intéressante dans ce domaine car de nombreuses espèces cultivées ont connu des évènements de duplication du génome et possèdent plusieurs copies de chaque gène. Ces évènements, très rares chez les espèces animales, sont relativement fréquents chez les plantes : certains blés cultivés possèdent 2 ou 3 lots de chromosomes homologues (génome tetra- ou hexaploïde), contre un lot de chromosomes homologues deux à deux chez l'homme et dans la majorité des espèces animales étudiées (génome diploïde).

En 2014, une équipe chinoise a réussi à l'aide de l'outil CRISPR à inactiver simultanément les différentes copies d'un gène de susceptibilité au mildiou présent trois fois dans le génome d'une espèce de blé, soit six modifications au total (un allèle paternel et un allèle maternel pour chaque gène) [6].

Cette stratégie d'inactivation des gènes de susceptibilité à certaines pathologies permettrait de limiter l'utilisation de fongicides et de pesticides. Si une telle approche n'est pas nouvelle, la facilité relative et la rapidité avec laquelle l'outil CRISPR/Cas9 permet sa mise en place encourage fortement son développement.

Edition du génome et obtention de plantes éditées identiques à des plantes naturelles
Deux équipes indépendantes, l'une chinoise et l'autre britannique travaillant sur des espèces de riz [7] et d'orge [8] ont récemment réussi à obtenir des plantes dont l'un des gènes était bien modifié grâce à CRISPR/Cas9 et où cet outil, introduit dans ces études via un transgène ne s'intégrant pas au génome, pouvait être perdu dans les générations suivantes.

Cet évènement rare produit alors des plantes *éditées*, transmettant la modification génétique à leur descendance et qui ne présentent aucune trace génétique de cette intervention. Ces plantes ne diffèrent pas de plantes présentant une variation naturelle dans l'un de leur gène et soulèvent donc des questions majeures en termes de l'applicabilité de certaines régulations.

Quelles régulations pour les produits de l'ingénierie génétique de « seconde génération » ?
La stratégie visant à modifier un ou des gènes déjà présents contraste fortement avec les technologies d'ingénierie agronomique « historiques », qui visent à insérer un gène d'une autre espèce au sein du génome et cette évolution pose la question d'une éventuelle mise à jour des régulations dans ce domaine.

Le Ministère de l'Agriculture américain (*the US Department of Agriculture*) a déjà indiqué que ce type de modification génétique chez des plantes cultivées, où il n'y a pas d'ajout d'un gène d'un autre organisme, et dont le produit final est similaire à des variétés obtenues par des méthodes classiques de croisements, mutagenèse et sélection, ne ferait *a priori* pas l'objet de régulations. L'Union Européenne doit quant à elle déterminer dans les prochains mois si ce type de produit est concerné par les lois actuelles sur les organismes génétiquement modifiés [9] [10].

Aux Etats-Unis, l'utilisation d'approches d'ingénierie génétique dans le domaine agro-alimentaire est en pleine explosion [11] [12]. L'approbation récente d'un saumon transgénique produisant une hormone de croissance, sans obligation d'étiquetage OGM (contrairement aux normes européennes actuelles) par la *Food and Drug Administration* (FDA, l'autorité régulatrice américaine) a envoyé un signal fort aux industriels de ce domaine [13].

Les exemples récents développés ici, centrés sur le cochon et certaines espèces végétales de consommation, sont représentatifs de l'accélération de l'innovation technologique permise grâce à CRISPR/Cas9. Cet outil permet ainsi de repousser certaines limites techniques en ingénierie génétique dans des champs extrêmement variés, mais l'encadrement réglementaire de son utilisation reste une question majeure.

Rédacteurs :
- Flora Plessier, Attachée adjointe pour la Science et la Technologie, Atlanta, deputy-univ@ambascience-usa.org

Notes

[1] http://www.france-science.org/L-outil-CRISPR-Cas9-ouvre-la-voie.html

[2] https://www.sciencemag.org/content/350/6264/1101.abstract?related-urls=yes&legid=sci;350/6264/1101

[3] http://munews.missouri.edu/news-releases/2015/1208-pigs-that-are-resistant-to-incurable-disease-developed-at-university-of-missouri/

[4] http://www.nature.com/nbt/journal/vaop/ncurrent/full/nbt.3434.html

[5] http://nar.oxfordjournals.org/content/early/2013/08/31/nar.gkt780.long

[6] http://www.technologyreview.com/news/529181/chinese-researchers-stop-wheat-disease-with-gene-editing/

[7] http://www.nature.com/articles/srep11491

[8] http://phys.org/news/2015-11-scientists-crispr-technology-crop-genes.html

[9] http://www.nature.com/news/crop-conundrum-1.19031?WT.ec_id=NATURE-20151217&spMailingID=50271052&spUserID=Nzk5MDYwMDk5ODIS1&spJobID=822569676&spReportId=ODIyNTY5Njc2S0

[10] http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/tpj.12413/full

[11] http://www.technologyreview.com/news/542311/dupont-predicts-crispr-plants-on-dinner-plates-in-five-years/

[12] http://www.genengnews.com/insight-and-intelligence/gene-editing-will-change-everything-just-not-all-at-one-time/77900351/

[13] http://www.nature.com/news/salmon-approval-heralds-rethink-of-transgenic-animals-1.18867