

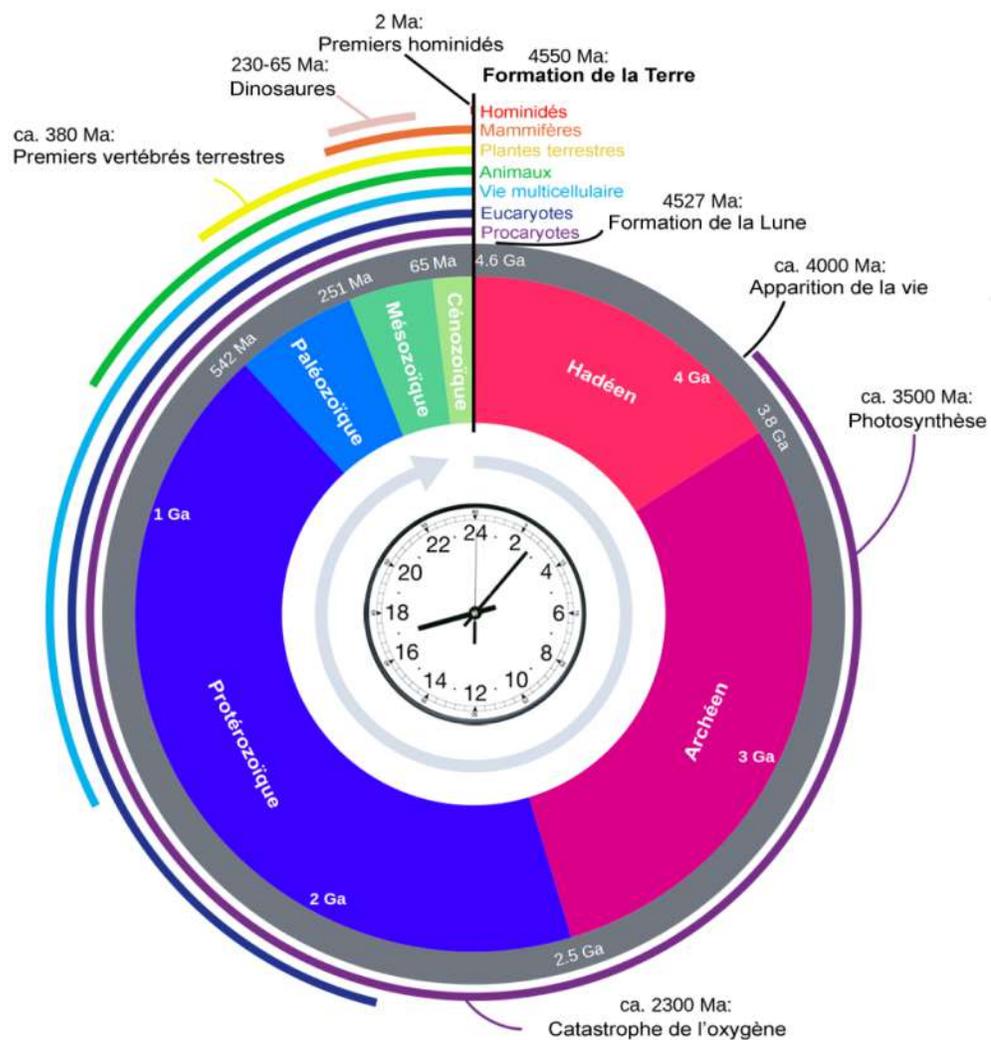
CRISPR-CAS9 :

Des « ciseaux génétiques » à ne pas mettre  
entre toutes les mains

Chloé PUISNEY-DAKHLI, PhD

Service d'Histologie-Embryologie-Cytogénétique

Hôpital Antoine Béchère, Clamart

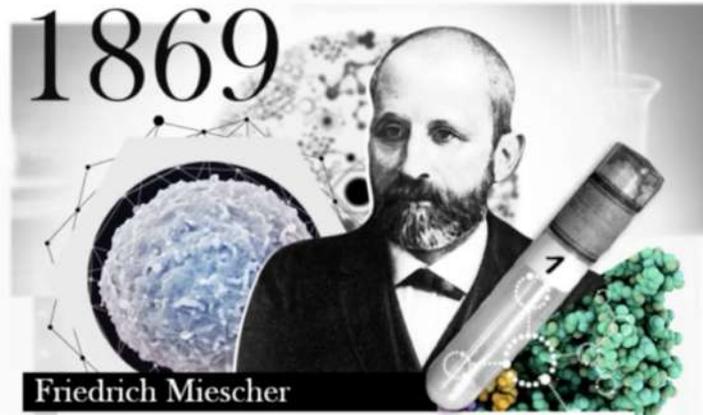


- Vie terrestre depuis des milliards d'années
- 99,9% avant l'arrivée d'Homo Sapiens
- Arrivée des hominidés → pendant 99,9% du temps le code génétique était ignoré



# Histoire de l'ADN...

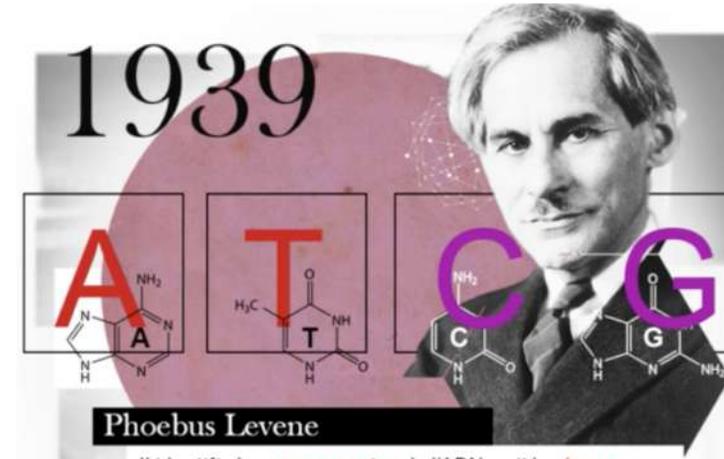
1869



**Friedrich Miescher**

Il isole, à partir du **noyau** de globules blancs, une **substance** qu'il nomme **nucléine**. Cette substance est composée de protéines et de ce qu'on appelle aujourd'hui l'ADN (acide désoxyribonucléique).

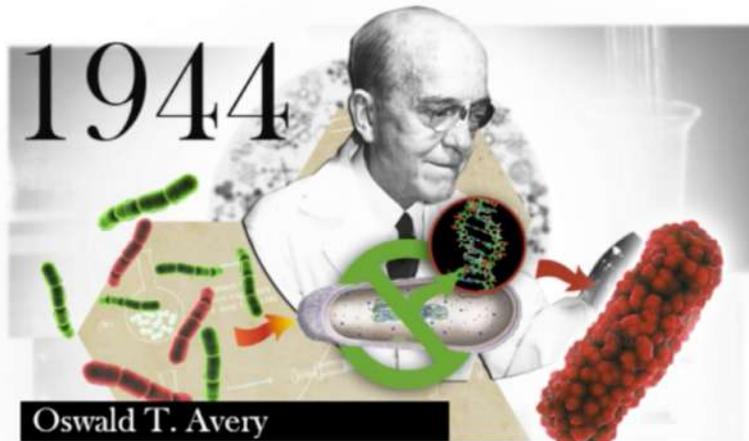
1939



**Phoebus Levene**

Il identifie les **composantes** de l'ADN, soit les **bases** adénine (A), thymine (T), Cytosine (C) et guanine (G) ainsi qu'une molécule de **sucre** (désoxyribose) et un groupe de **phosphate**.

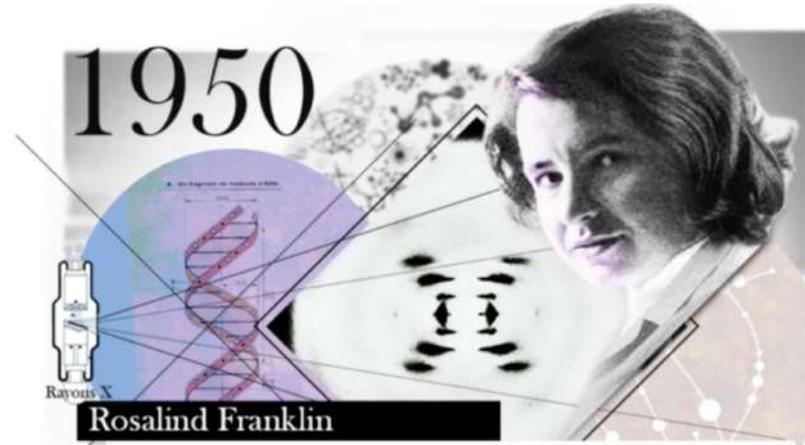
1944



**Oswald T. Avery**

Il élimine tous les composants de la bactérie causant la pneumonie, sauf l'ADN. Malgré tout, l'ADN peut toujours transformer une bactérie non-pathogène en bactérie pathogène, ce qui permet de démontrer que l'ADN **porte l'information génétique héréditaire**.

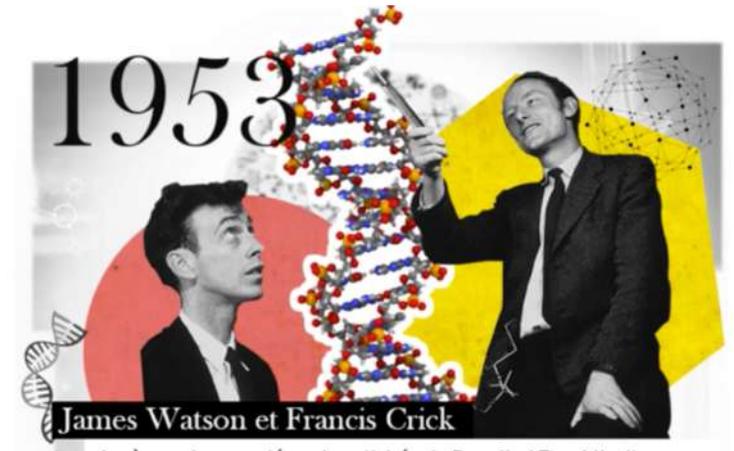
1950



**Rosalind Franklin**

En collaboration avec Maurice Wilkins, elle prend des **clichés radiographiques** des cristaux de la molécule d'ADN. Les clichés obtenus grâce à cette technique de diffraction des rayons X, dont la célèbre **Photo 51**, montrent que les molécules d'ADN forment une **structure hélicoïdale**.

1953



**James Watson et Francis Crick**

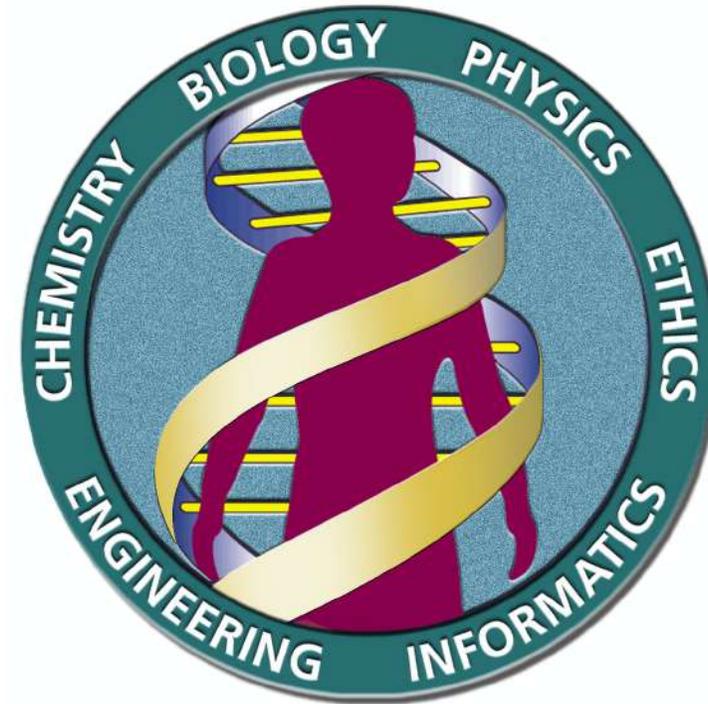
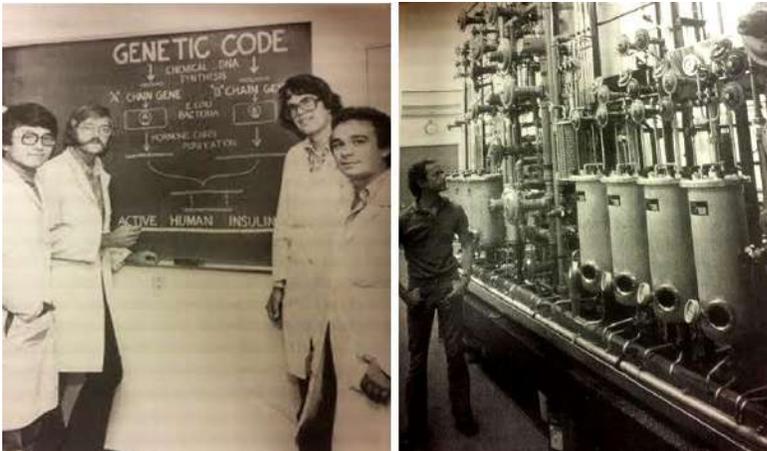
Après avoir regardé un des clichés de Rosalind Franklin, ils élaborent un **modèle chimique** de la molécule d'ADN et sont les premiers à avancer, en avril 1953, qu'il s'agit d'une structure en **double hélice**.

# Histoire de la « manipulation de l'ADN »

1977 : Séquençage Sanger



1977-79 : Production de protéines recombinantes par Genentech



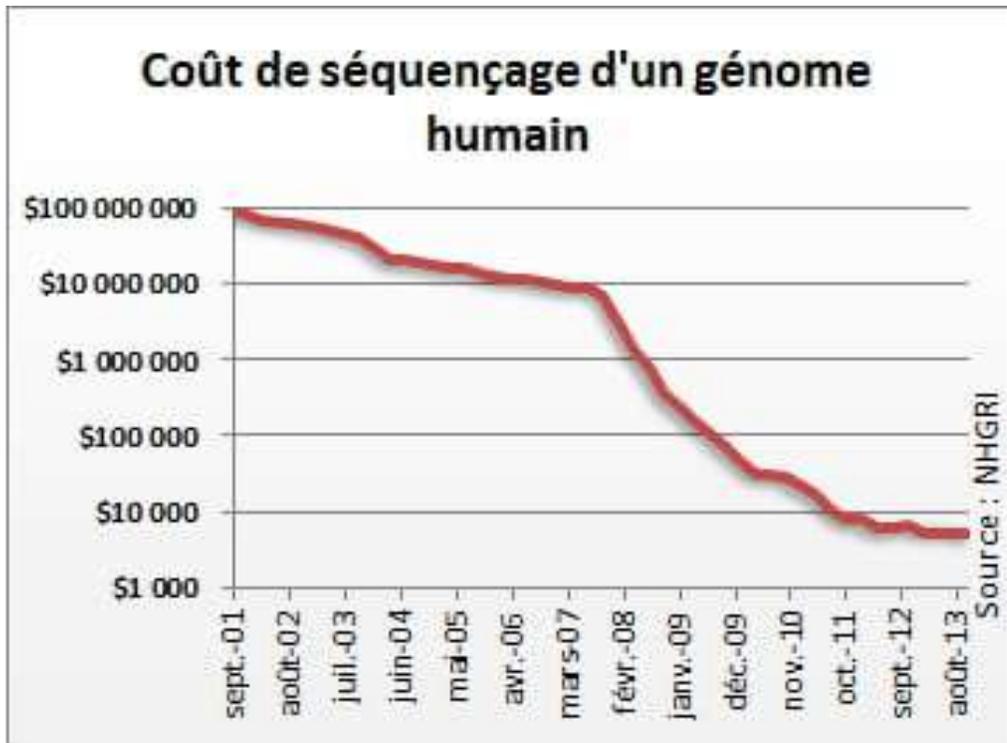
1984 : Human Genome Project

1990 : Début de l'identification des gènes du génome humain

2003 : Séquençage du premier génome

# The New York Times

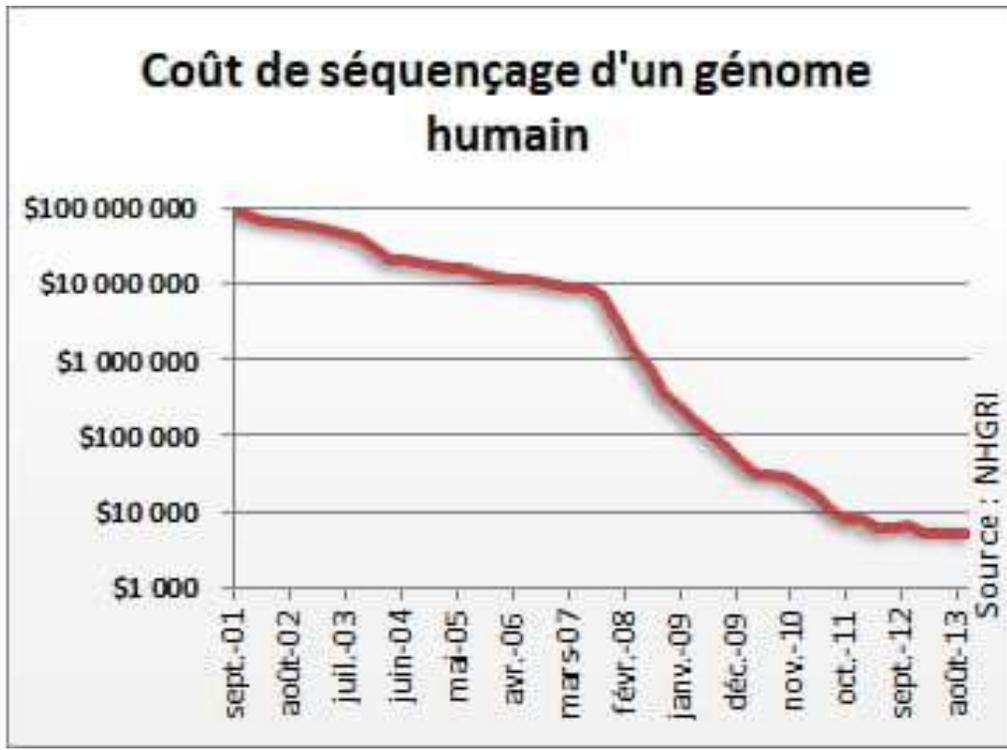
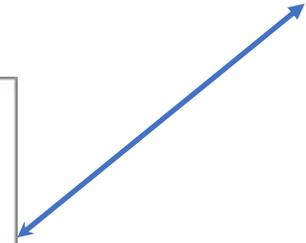
## *With Genome, A Radical Shift For Biology*



**The New York Times**  
*With Genome, A Radical Shift For  
Biology*

Identifier les gènes responsables  
des maladies

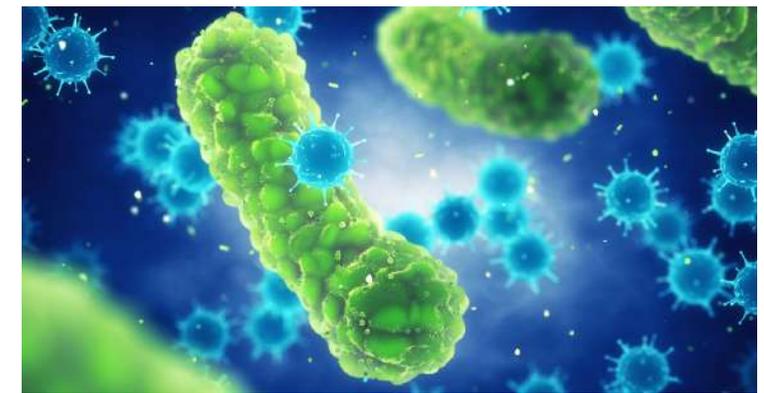
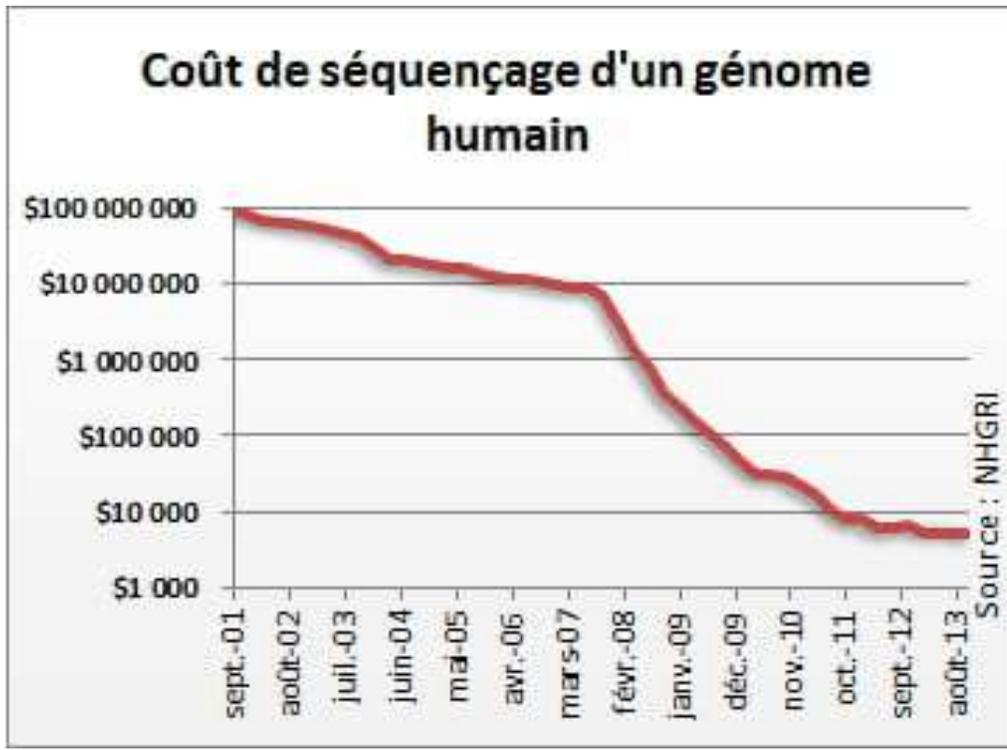
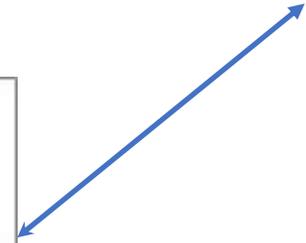
Pour les modifier, un challenge : les  
localiser



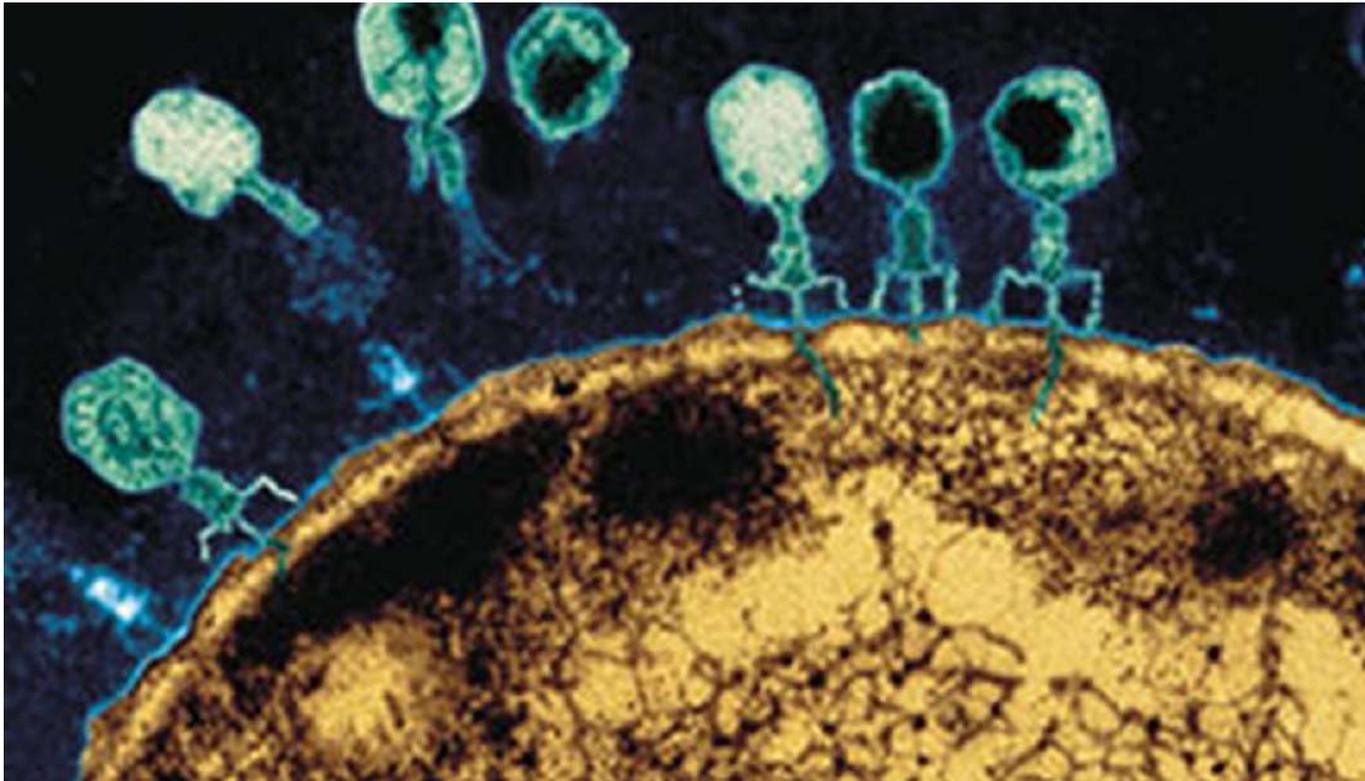
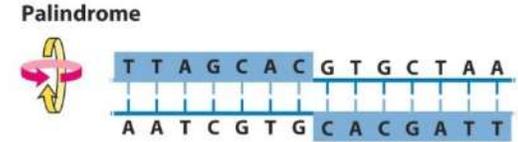
**The New York Times**  
*With Genome, A Radical Shift For  
Biology*

Identifier les gènes responsables  
des maladies

Pour les modifier, un challenge : les  
localiser



# « CRISPR-Cas9 » : Prépambule

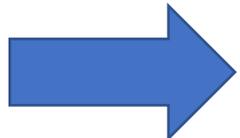


1987 : Identification de sPquences en palindromes dans le gPnome d'*Escherichia Coli*

2002 : Acte de BaptPme « CRISPR » pour Clustered Regularly Interspaced Short Palindromic repeats

2005 : Morceaux d'ADN intercalPs sont des morceaux de virus

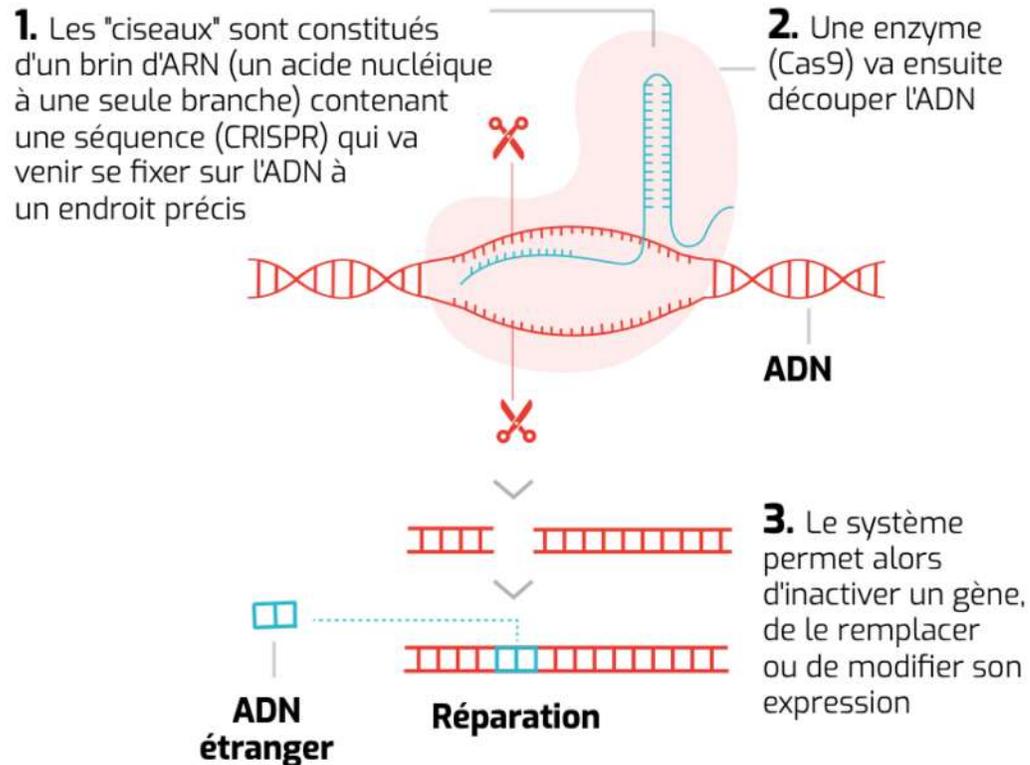
2009 : GrPce P l'industrie agro-alimentaire et P l'Pquipe de Danisco, dPcouverte que les souches de *Streptococcus thermophilus* qui rPistent le mieux sont celles qui contiennent les CRISPR : Notion d'immunitP bactPrienne



2009 – 2012 : Ces palindromes sont liPs P une enzyme qui agit comme des ciseaux « Cas9 » et permet de protPger la bactPrie en cas de nouvelle attaque virale

# 2012 : La révélation

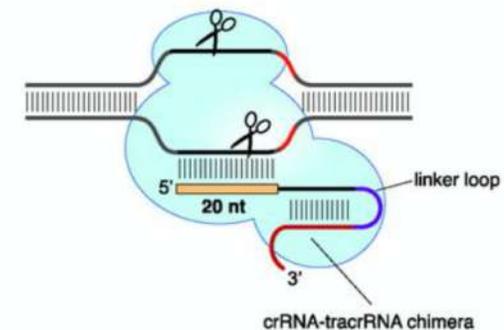
- Jenifer Doudna (Berkeley, USA), Emmanuelle Charpentier (Umea, Suede) & Danisco



## A programmable dual RNA-guided DNA endonuclease in adaptive bacterial immunity

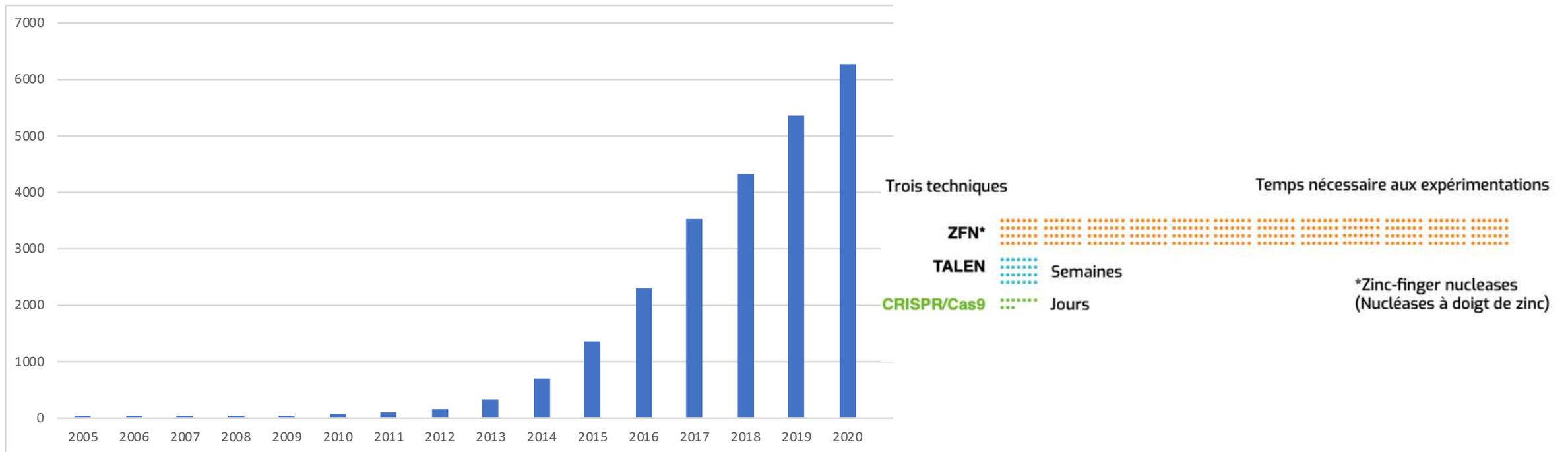
Martin Jinek<sup>#1,2</sup>, Krzysztof Chylinski<sup>#3,4</sup>, Ines Fonfara<sup>4</sup>, Michael Hauer<sup>2,5</sup>, Jennifer A. Doudna<sup>1,2,6,7,\*</sup>, and Emmanuelle Charpentier<sup>4,\*</sup>

Cas9 programmed by single chimeric RNA



# Crispr-Cas9 : Les débuts d'une success story

- 2013 : Premiers succès sur des cellules humaines
- 2013-2018 : Montée en puissance de l'ingénierie génomique



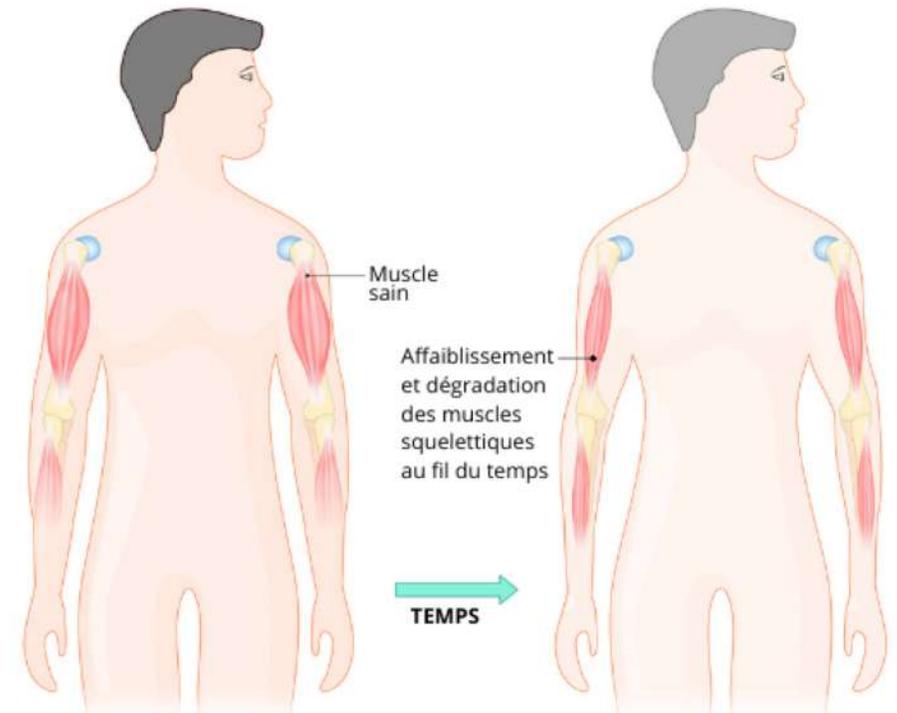
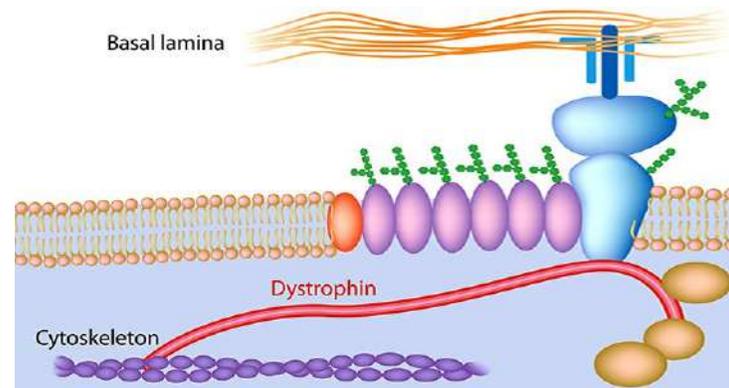
Extraction du nombre d'articles « CRISPR » (Pubmed 2021)

# Crispr-Cas9 : Les défis de demain

- Soigner les maladies génétiques
- Comprendre le fonctionnement de mécanismes humains inexplorés en utilisant les modèles animaux ou de substitution
- Dresser la carte des maladies mentales : importance des séquences régulatrices et des maladies multigéniques

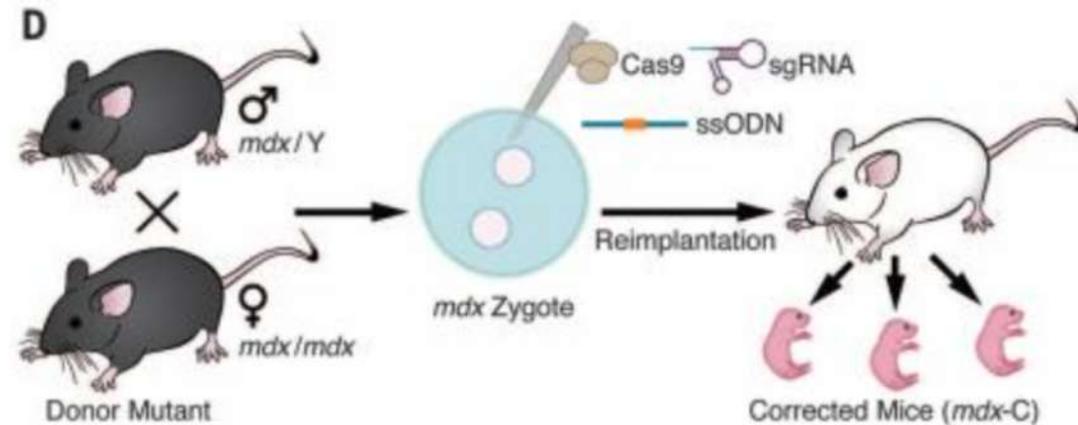
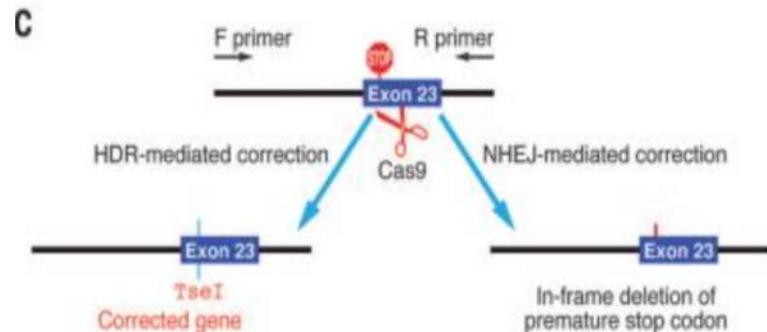
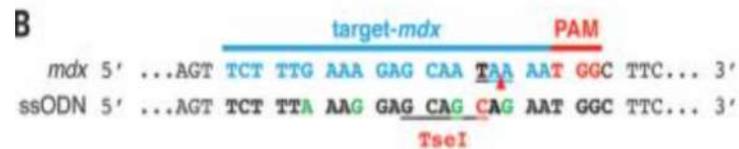
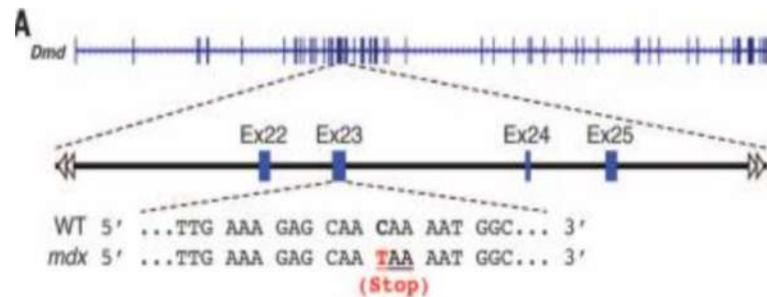
# Crispr-Cas9 : La success story (1)

- Soigner les maladies génétiques : Myopathie de Duchenne



# Crispr-Cas9 : La success story (1)

- Soigner les maladies génétiques : Myopathie de Duchenne

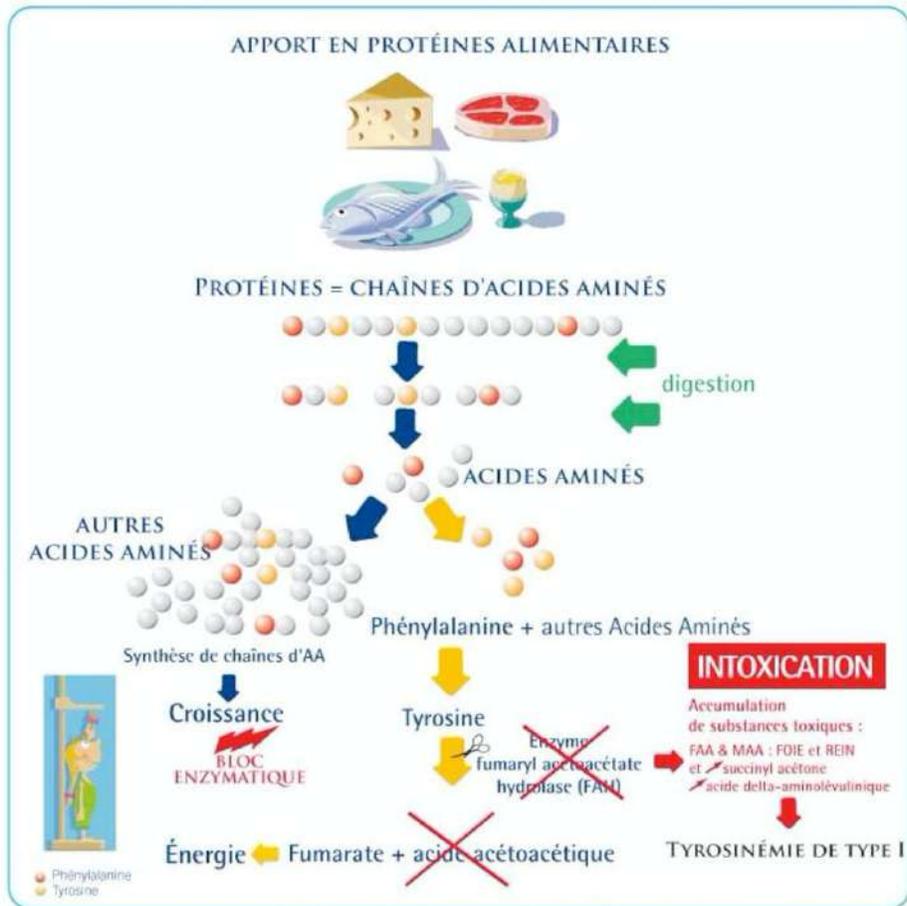


- Correction embryonnaire des mutants par CRISPR-CAS9
- Implantation d'embryons corrigés
- Au moins 40% de cellules corrigées + muscles parfaitement normaux

Long C et al. Prevention of muscular dystrophy in mice by CRISPR/Cas9-mediated editing of germline DNA. *Science*. 2014;345(6201):1184-1188.

# Crispr-Cas9 : La success story (2)

- Soigner les maladies génétiques : la tyrosinémie



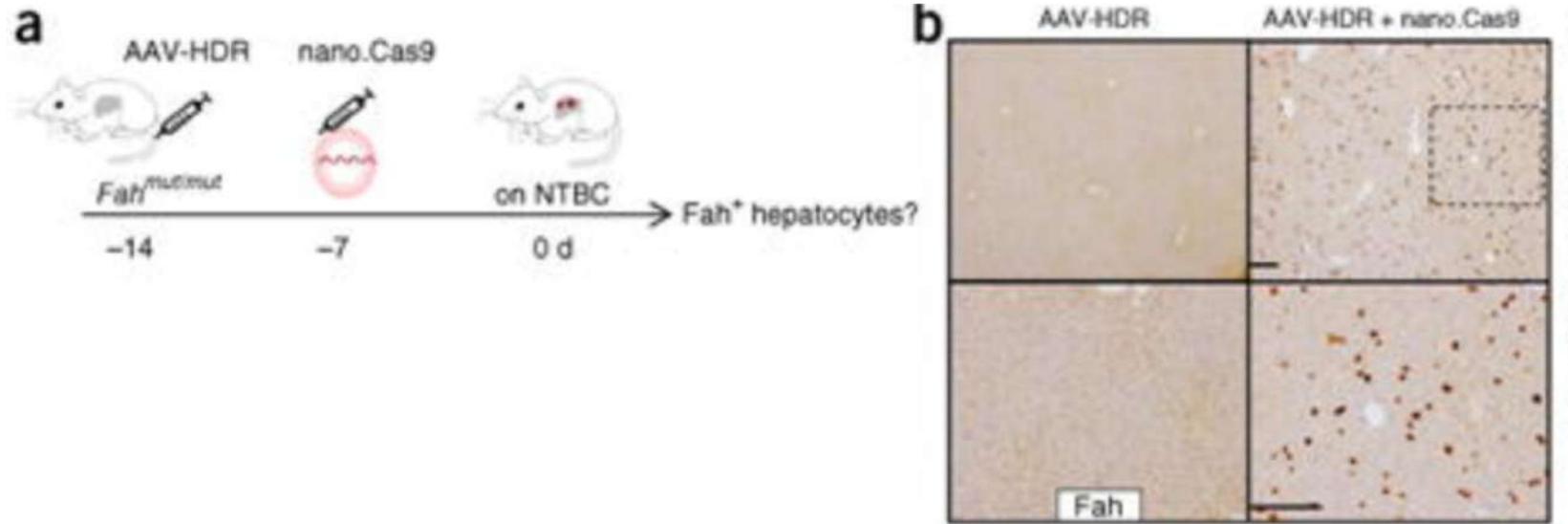
Sur le plan clinique :

Apparition dans les premiers mois de vie :

- Vomissements
- Œdèmes
- Ascite
- Hépatosplénomégalie
- Hypoglycémie
- Troubles de la coagulation

# Crispr-Cas9 : La success story (2)

- Soigner les maladies génétiques : la tyrosinémie



- Retour de l'activité dans 0,5% des cellules qui prolifèrent pour représenter au bout de quelques mois 1/3 des hépatocytes et rétablir une fonction hépatique

# 2020 : La consécration



# Les défis de demain (1)

- Dépasser la barrière des anticorps :
  - 65 à 79 % de la population en possession d'anticorps contre les protéines de type CRISPR-Cas9
  - 46 % de la population possèderait aussi des globules blancs spécifiquement dirigés contre ces protéines
- Dépasser l'effet off-target :
  - Autres modifications non désirées en d'autres endroits du génome
  - Pour une modification souhaitée avec l'enzyme Cas9, les chercheurs peuvent se retrouver avec des dizaines de modifications "off-target" (hors-cible)
    - Cas de l'Université Sun Yatsen dans la province du Guangdong (Chine), modification d'embryons humains dans le cadre de la beta-thalassémie : autres modifications ++
  - Améliorations du système CRISPR-Cas9 permettant de diminuer ces effets indésirables : défis de demain et sujet d'intérêt de nombreux laboratoires

# Les défis de demain (2)

"Une révolution qui va secouer la planète, à une profondeur dont on n'a même pas idée." *André Choulika, CEO de Collectis*

- Estimer les conséquences éthiques, génétiques et environnementales :
- Premier enjeu : Conséquences éthico-génétiques
  - Utilité de la technique CRISPR +++
  - Modifications somatique et germinale doivent être distinguées : scandale des embryons humains « normaux » modifiés en Chine et « perdus de vue »
  - Modification des cellules germinales = Eugénisme ++ (Interdit par la Convention d'Oviedo)
  - Evolution de la technique pour que Cas9 ne soit plus qu'un radeau d'ancrage à une enzyme corrective

# Les défis de demain (3)

"Une révolution qui va secouer la planète, à une profondeur dont on n'a même pas idée." *André Choulika, CEO de Collectis*

- Estimer les conséquences éthiques, génétiques et environnementales :

	Cellules somatiques	Cellules germinales
Soin	Médecine	Soigner les futures générations ? Eugénisme ?
Amélioration	Chirurgie esthétique	« Baby design »

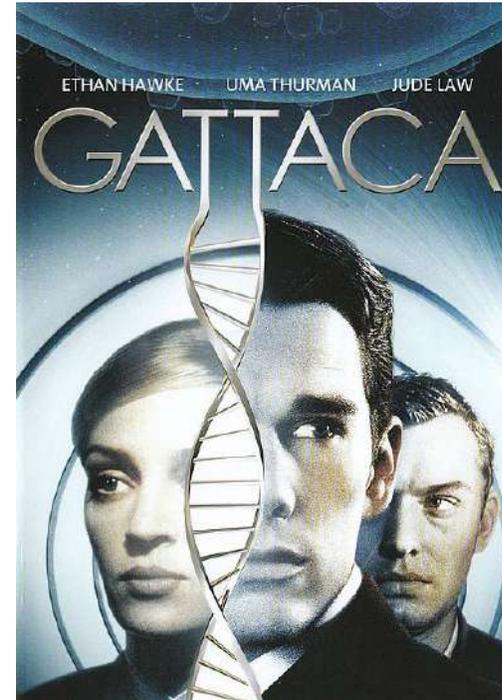
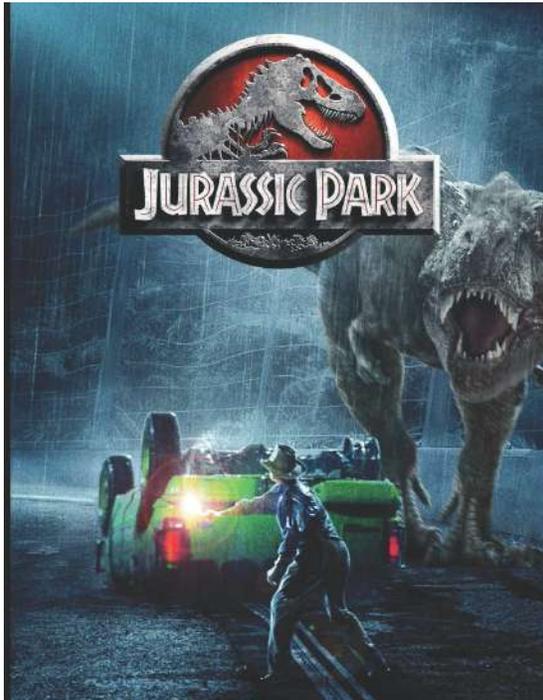
# Les défis de demain (4)

"Une révolution qui va secouer la planète, à une profondeur dont on n'a même pas idée." *André Choulika, CEO de Collectis*

- Estimer les conséquences éthiques, génétiques et environnementales :
- Second enjeu : Conséquences environnementales
  - Eradiquer la dengue, Zika et le paludisme par la dissémination de moustiques stériles
  - Reproduction impossible des espèces porteuses des maladies
  - Durée de vie limitée : nécessite une libération répétée
  - Impact sur la biodiversité et la chaîne alimentaire ?
  - Transmission éventuelle de gènes modifiés à d'autres espèces qui pourrait éradiquer des espèces vitales pour l'homme comme les abeilles

# Conclusion

- Potentiel incontestable de la technologie CRISPR-Cas9
- Des « ciseaux génétiques » à ne pas mettre entre toutes les mains





**Designer Babies**



**MERCI**