

De l'ADN vainqueur à l'ADN conquis : la révolution CRISPR Cas9.

D^r Pascal GOUGET, membre honoraire

Les premiers organismes autoreproductibles sont apparus il y a près de quatre milliards d'années.

Issues d'un prélude à l'ARN, ce furent d'abord des cellules sans noyaux, ou procaryotes, les archées et les bactéries. Les procaryotes ont leur ADN condensé en un chromosome sans enveloppe, puis l'évolution s'est faite vers des cellules plus complexes, les eucaryotes dotées d'un noyau qui contient des chromosomes stockant leur ADN.

Procaryotes et eucaryotes se multiplient grâce aux synthèses des protéines nécessaires à leur fonctionnement dont le programme réside dans leur ADN. Ces organismes envahissent tous les milieux où ils trouvent les éléments et aliments permettant leur reproduction. Si les bactéries et archées ont dominé le monde pendant trois milliards d'années, les eucaryotes ont ensuite formé des associations pluricellulaires engendrant les mondes des champignons, des plantes et des animaux.

Le code génétique, qui permet de synthétiser une protéine à partir d'un ADN, est universel, il vaut pour les archées, les bactéries, les champignons, les plantes et les animaux. C'est ce que j'entends, pour faire bref, par victoire de l'ADN.

La conquête humaine de l'ADN.

En 1868 Miescher a découvert dans les noyaux cellulaires une substance différente des protéines, riche en phosphore, qu'il a nommé nucléine. L'analyse de la nucléine a montré qu'elle était constituée d'acides nucléiques.

Dès 1880 il est établi que l'hérédité a un lien avec le noyau des cellules :

1911 : Les acides nucléiques sont localisés dans les chromosomes. Thomas Morgan établit que les chromosomes sont les supports des gènes :

Le biochimiste russo-américain Phoebus Levene (qui a découvert le sucre ribose en 1909 et le sucre désoxyribose en 1929), a suggéré que la structure de l'acide nucléique est un tétramère répétitif. Il a appelé nucléotide l'unité phosphate - sucre - base. Les quatre bases Adénine, Cytosine, Guanine, Thymine (en abrégé ACTG) sont réparties dans des proportions à peu près égales. Cependant, chaque composant à quatre nucléotides est une molécule séparée, la simplicité de cette structure impliquait que les acides nucléiques ne pouvaient être le support de l'hérédité.

C'est à James Watson, Francis Crick et Maurice Wilkins que l'on doit la découverte [\[pg1\]](#) en 1953 de la structure exacte de l'ADN : c'est une très longue molécule dont la succession des bases AGTG peut constituer le support de l'hérédité.

Le Human Genome Project (programme de séquençage entier du génome humain) voit le jour en 1986.

En 1995, la mise à disposition de la cartographie du génome humain permet d'accélérer les recherches sur les maladies génétiques

Depuis les années 2000, les techniques d'analyse des chromosomes et des gènes font l'objet d'améliorations permanentes. L'analyse du génome de diverses espèces puis de l'homme, laborieuse au début, s'est accéléré rapidement ces vingt dernières années.

L'espèce humaine possède 3 400 millions paires de bases et environ 25 000 gènes.

Mais les longues molécules d'ADN et d'ARN comportant des millions, voir des milliards d'échelons ne se prêtent guère à l'analyse.

Pour travailler sur un génome il faut le découper en fragments plus petits.

Des enzymes provenant de bactéries sont venues au secours des chercheurs. Elles sont multiples.

Parmi ces enzymes, les nucléases attaquent l'ADN, les exonucléases aux extrémités, les endonucléases dans le corps de la molécule.

Dans les années 70, sont découverts les enzymes de restriction, des endonucléases qui coupent les ADN en des endroits précis. Ces enzymes sont issus de bactéries, par exemple Eco RI, d'*Escherichia coli* coupe l'ADN entre les groupes 5'GAATTC et 3'CTTAAG. On connaît plusieurs centaines d'enzymes de restriction.

Ils ont permis d'obtenir les premiers succès dans la manipulation de l'ADN, par exemple pour établir une carte génétique d'une molécule d'ADN.

Comment modifier un gène ? Là encore des enzymes sélectionnées par les bactéries au cours de leur évolution sont venues au secours des chercheurs.

Les premiers essais longs à mettre en œuvre et imprécis dans leurs résultats ont cependant permis de récolter d'incontestables succès.

À la fin des années 1990 de nouvelles techniques apparaissent, elles font intervenir diverses enzymes, comme les méganucléases ou les protéines enzymatiques à doigt de zinc. Ces dernières sont des enzymes semi synthétiques qui permettent une grande précision dans la modification des gènes

Un pas de géant a été franchi il y a une douzaine d'années avec une enzyme au nom énigmatique, CRISPR. Des chercheurs japonais travaillant sur un système de défense immunitaire des bactéries ont mis en évidence un polynucléotide qui présente de courtes répétitions palindromiques de bases : *short palindromic repeat*. Ces répétitions de bases sont groupées et régulièrement espacées (*clustered regularly interspaced*). « CRISPR » désigne ce système : *Clustered Regularly Interspaced Short Palindromic Repeat*.

CRISPR est un système de reconnaissance de l'ADN, produit naturellement par une bactérie.

Quelques années plus tard une chercheuse française Emmanuelle Charpentier et son associée américaine Jennifer Doudna, travaillant sur la bactérie *Streptococcus Pyogenes*, identifient chez celle-ci un système CRISPR dépendant d'une seule nucléase Cas9. Cas9 est une endonucléase, une enzyme qui coupe la double hélice d'ADN. L'association des deux, CRISPR et Cas9, forme un système de ciseaux moléculaire très précis qui permet de couper l'ADN, d'inactiver des gènes ou d'en introduire.

La première démonstration de l'utilisation du système CRISPR-Cas9 pour modifier spécifiquement le génome de cellules eucaryotes date de 2013.

En à peine deux ans, cette technique a rapidement remplacé les précédentes et s'est répandue dans les laboratoires du monde entier. Facile à mettre en œuvre, elle a été employée avec succès pour inactiver, réprimer, ou modifier des gènes d'intérêt dans toutes sortes de cellules provenant de divers organismes.

La révolution CRIPR-Cas9

CRISPR-Cas9 inspire espoirs et craintes.

Pourra-t-on l'utiliser pour guérir certaines maladies génétiques comme par exemple la myopathie de Duchenne en insérant des cellules somatiques du patient dont le génome aura été normalisé ? ou des maladies infectieuses comme le SIDA ?

La suppression d'une espèce, celle du moustique vecteur du paludisme a été envisagée avec le technique du forçage génétique, issue de CRISPR Cas9. De grands laboratoires y travaillent en s'interrogeant sur les suites possibles de l'éradication d'une espèce.

D'autres rêvent de faire revivre le mammoth.

Cette technique permet de modifier facilement le génome des cellules germinales des animaux et des plantes. La création d'espèces végétales ou animales existe déjà, mais devient plus facile. De nombreux essais sont en cours.

Si un consensus apparaît actuellement pour ne pas intervenir sur les cellules germinales humaines, sera-t-il toujours respecté ?

Avant CRISPR-Cas9, l'ADN est la mémoire naturelle des espèces vivantes. Après CRISPR-Cas9, l'ADN est le jouet des hommes pour satisfaire à leurs besoins, réaliser leurs désirs ou leurs fantaisies.