CRISPR-Cas9, un nouvel outil au service de la biogénétique

Et si on modifiait l'Etre humain?

Pr John DE VOS
Département d'Ingénierie Cellulaire et Tissulaire
INSERM 1183 - IRMB
Hôpital St Eloi - CHU de Montpellier
john.devos@inserm.fr

@_jdevos_

ADN ?

ADN : pourquoi le modifier?

ADN : comment le modifier? CRISPR/Cas9

Modifier l'ADN d'un enfant à naître

ADN ?

Notre ADN

- L'ADN : acide désoxyribonucléique
- C'est le support de l'information génétique
- Un alphabet à 4 lettres!
  - A
  - T
  - C
  - G

TCTGATAGGATCTCCTGTTTGGGCTGTGTGTGTGCGCGTTGTGAGCTGGGTTTACCTCCAGTCAAGTATA
GGGCTTGTCTTCCCCGGATCTCTGCCTCAGGCCAATGACTGGCCACTGTGTTAAGGTGCACACCCTGGCA
CCCCTTGTAGAAAGCTGGATTTTGATTGACTTCAGCCTCAGTTCCAAAGTTGTAAACAAGAAAAATGGTG
AGAGATTTCTCCAGGCCATTTGCAAATATAGAGCTGCTGCGGGATTGAAGGCATCCAGCCCTGCTGAGGA
CTATTAAAGATGTATCTTCCAGTCCTTCAAGGCGACAAGTGTAAGCAATTAGAGATTAAATACTAAGCCT
TGAGACCTCACAGAAAGGTGTGACTGGTTTCTGGAGTGACCGAGAAGCCCCAACCTCTTCGCAGGAGGTC
ACTGCTGAGCCTTGAATGATAATGGCTGGCAATTGTGGTCCACTTCCTAAGTGCCTGGCTGTGTGCTCCG
TTTATACATCATTATCTCATTAACCAGCACAAAATCTCCTAGGGGGAGGTATTATTATCCTATTTAACGG
GTTTTAACTGCTAAATGATGAAGCGAGGATTTGGACCAGTGTTTATTCCAAAACCCCAAAACAGAATTTG
GAAAATCCAAGATAGCAGAGGGCATTTATCAGTTTGAGTTATTGGCTGAGCAGAAGTTGGGGATGAAAAC
AGCCTATTTGAAATTGATATGATCAAGCACCATTGAAACACTTCCTTGAGGCTTCAGAACTACAAAAAGG
CCTTGTTTTTTTCTCACTAGCTGTGCACCTCTGTCTGCCGGCAGCCTCATATGGCATGCCCCAGGGCTCA
GTCCTTCAACCTCTGCTCTATCTACCCTTCCTTCCTCTCACCCACCCTCAAGGCTTAAATGCCATTTAGA
CACCAGATGACTACCGCGTTTTCTGTCTCTTGTGATGGCTCCCTGAACTGCTCCACCCTGATCACCCAGT
TGCTCAAGGCCAAACCCAGTCATCCTCAGTTTCTTTCATGTCCTACATCCTATCCTTAAGAAACATCCTG
AATCAATCACAACCTAACCCTGGCCTCAGCCACCATCATCTCTGCTGGGATTACCGCAGTAGCTTCTCAA
ATTATACTGCTTCCTCCCTACTGTCTGTGGCCAACACGTCAACTAGAGTCAGTGTTTTAAAAGGTGTGGC
CAGGCACTTTGGGAGGCCGAGGCAGGCGAATCACCTGAGGTCGGGAGTTCGAGTCCAGCCTGACCAACAT
GGCGAAACCCCATCTCTACTAAAAATACAAAATTAGCTGGGCGTGGTGACGCATGCCTGTAATCTCAGCT
ACTCAGGAAGCTGAGGCAGGAGAATCGCTTGAACCTGGGAGATGGAGGTTGCGGTGAGCCGAGATCGCGC
CAGTGCACTCCAGCCTAGGCAACAAAAGCGAAACTCTCAAAAAAAAAAAAAAAAAAGGTGAGGCTAGGTG
CGGTGGTTCACACCTGTAATCCCAGCACTTTGGGAGGCCAAGGTGGACAGATCACTTGAGGTCTCCTGAC
CAGCCTGGCCAACATGGTGAAACCCCATATCTACTAAAAATACAAAAATTAGCCGGGCATGGTGGTGGGT
GCCTGTAGTCCCAGCTACTCAGGCGGCTGAGGCAGAATAGCTTGAACCCAGAAGGCGGAGATTGCAGTGA
GCCAAGATCACGCCACAGCACTCCAGCCTGGGCGATAGAACGAGATTCCGTCTTGGTGGGGAGAAAAAGG
GTGAGAGATCATTTCGCTTGGACTAAAACAAAGTCACTATGTCTGCAACAGGATCTACCTAGCCACCAGA
CCAGCTTTGGGCTCTGGAAGGCCCACTTCAGGGCCTTGCCACATTAGACTCTTGTCCTTTGCTCAAACAA
TCACCTTCTCTGTCTTTAAAAGTGTCACCCTCCTCCATAATCTCCTTCCCTCCTTTACCCTACTCCTATA
GACTGCTTTATTTTTTTTTTAATTTTTGAGATGGAGTCTCACTCTGTCCCTCAGGCTGGAGTGCAGTGGT
GCGATCTTGGCTCACTGCAAACTCCACCTCCTAGGTTCAAGCAATTCTCCTGCCTCAGCCTCCTGAGTAG
CTGGGATTATAGGGGAGCGCCATGATGCCCAGCTAATTTTTGTATTTTTAGTAGAGACAGAGTCTCACTA
TGTTGACCAGGCTAGTCTTGAACTCCTGACCTCAAGTGATCTACCCACCTTGGCCTCCCAAAGTGAAGGG
ATTACAGGCATGACCACTGCGCCCAGACTGCTTTACTTTTTTCCATAATATATATATATATTTTAAATAG
AGGCAGCAGGGGTGGGAGAAGGGGCGGCACGGGTCTCACTATGTTACCCAGGCTGCTTTCTAACTCTTGG
GCTCAAGCAGTCTGCCCACCTTGGCCTCCCAAAGTGCTAGGATTTACAGACATGAGCCACTGTGCCTGGC
CATTTTTTATTTTATTTACTTTTTTATTTTTCAGAGCAGGAGTGGAAGTTTATTATTAAAAAGTTATAGG
GCAGGGAAAAAAGGAAAGTGCACTTGGAAGAGATCCAAGTGGGCAACTTGAAGAACAAGTGCCAAATAGC
ACTTCTGTCATGCTGGATGTCAGGGCTCTTTGTCCACTTTGTATAGCCGCTGGCTTATAGAAGGTGCTCG
ATAAATCTCTTGAATTTAAAAATCAATTAGGATGCCTCTATAGTGAAAAAGATACAGTAAAGATGAGGGA
TAATCAATTTAAAAAATGAGTAAGTACACACAAAGCACTTTATCCATTCTTATGACACCTGTTACTTTTT
TGCTGTGTTTGTGTGTATGCATGCCATGTTATAGTTTGTGGGACCCTCAAAGCAAGCTGGGGAGAGTATA
TACTGAATTTAGCTTCTGAGACATGATGCTCTTCCTTTTTAATTAACCCAGAACTTAGCAGCTTATCTAT
TTCTCTAATCTCAAAACATCCTTAAACTGGGGGTGATACTTGAGTGAGAGAATTTTGCAGGTATTAAATG
AACTATCTTCTTTTTTTTTTTTCTTTGAGACAGAGTCTTGCTCTGTCACCCAGGCTGGAGTGCAGTGGCG
TGATCTCAGCTCACTGCAACCTCCGCCTCCCGGGTTCAAGTGATTCTCCTGCCTCAGCCTCCTGAGTAGC
TGGGATTACAGGTGCGTGCCACCGTGCCCAGCTAATTTTTGTGTTTTTAGTAGAGACGGGGTTTCACCAT
GTTGGCCATGCTGGTCTTGAACTCCTGACCTCGTGATCTGCCCACCTCGGCCTCCCAAAGTGCTGGAATT
ATGGCTGAGCCACCGCGCCCAGCAAAGAACTTCTAACCTTCATAACCTGACAGGTGTTCTCGAGGCCA
GGGTCTCTGTTTCTGTCCTTTCACGATGCTCTGCATCCCTTGGATGTGCCAGTTTCTGGGGGAAGAGTAG

Une brève histoire de l'ADN

- Mendel (1822 – 1884) : les 3 lois qui sont les fondations de la génétique moderne
- En 1869, Friedrich Miescher découvre « la nucléine » (= ADN)
- Wilhelm Johannsen en 1909 : crée le mot « gène »
- En 1944 Oswald Theodore Avery établi formellement le lien entre ADN et gène

ADN : Double hélice

No. 4356 April 25, 1953 NATURE

MOLECULAR STRUCTURE OF NUCLEIC ACIDS

A Structure for Deoxyribose Nucleic Acid

WE wish to suggest a structure for the salt of deoxyribose nucleic acid (D.N.A.). This structure has novel features which are of considerable biological interest.

J. D. WATSON
F. H. C. CRICK

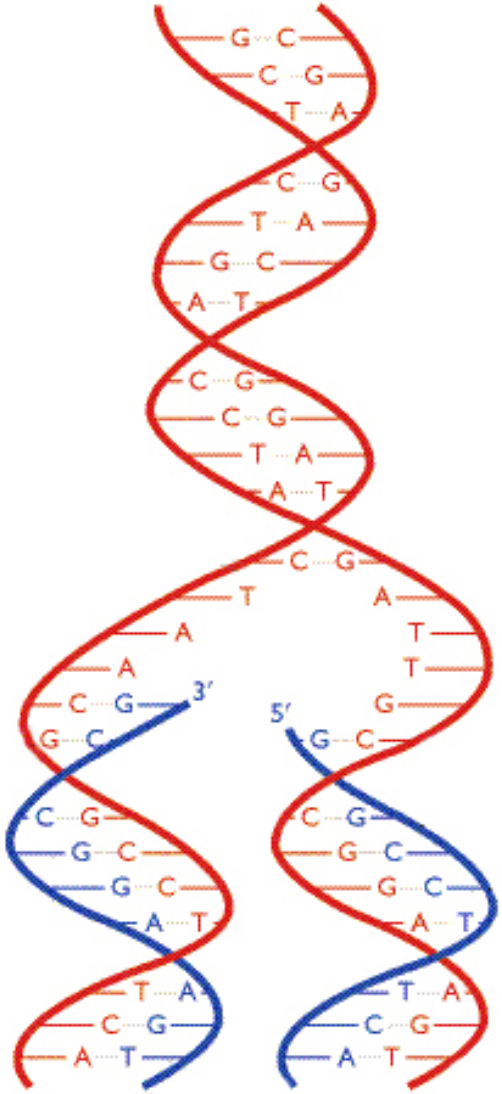
It has not escaped our notice that the specific pairing we have postulated immediately suggests a possible copying mechanism for the genetic material.

Une brève histoire de l'ADN

- Nirenberg et Khorana : code de l'ADN (codons)

ADN : duplicable

ADN : duplicable

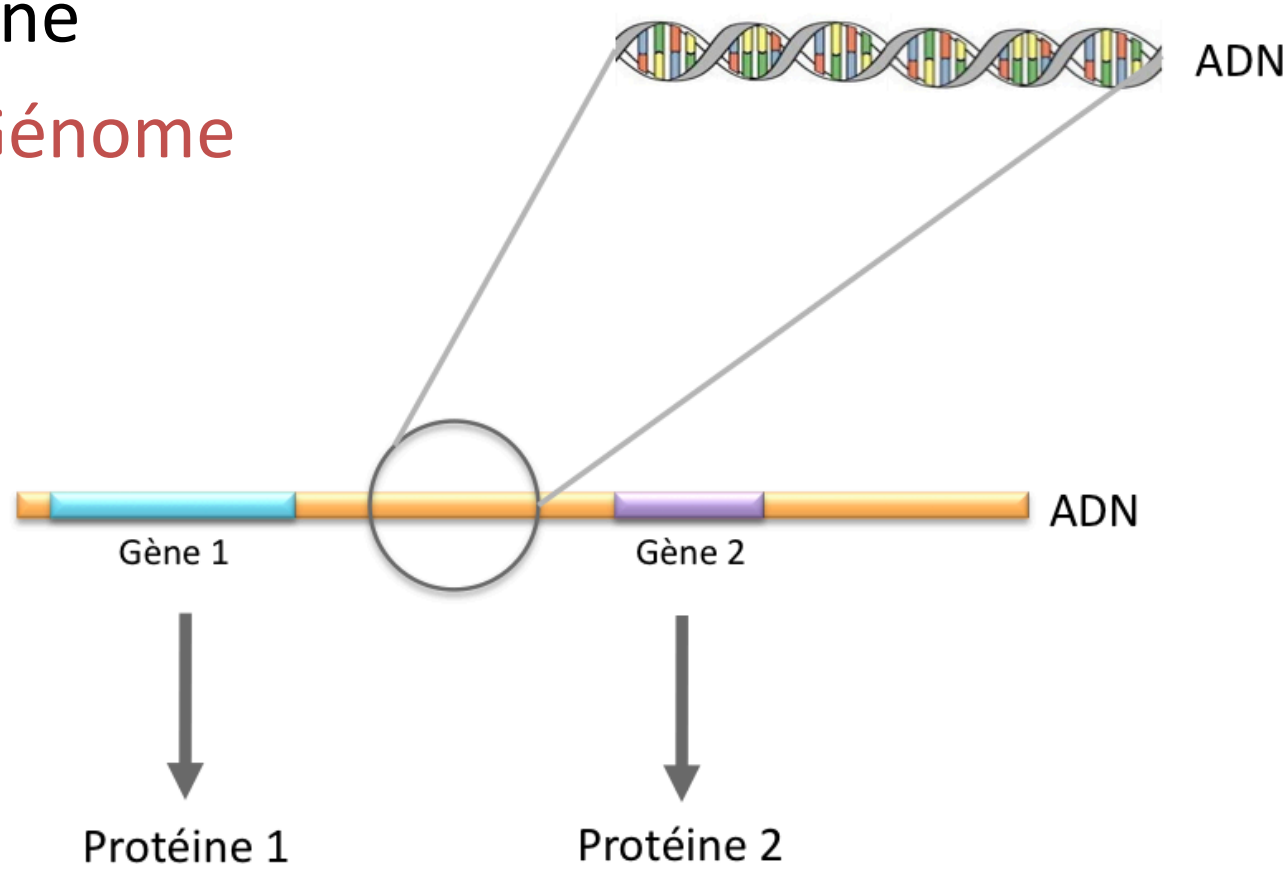


Stabilité et protection de l'ADN

- L'ADN est une molécule très stable (ADN de mammouths, etc.)
- Il est réparé immédiatement en cas de cassure
- Il est protégé dans un coffre fort: le noyau!

Les gènes

- ADN ➔ protéines
- 1 gène ~ 1 protéine
- 20 000 gènes = Génome



Les gènes

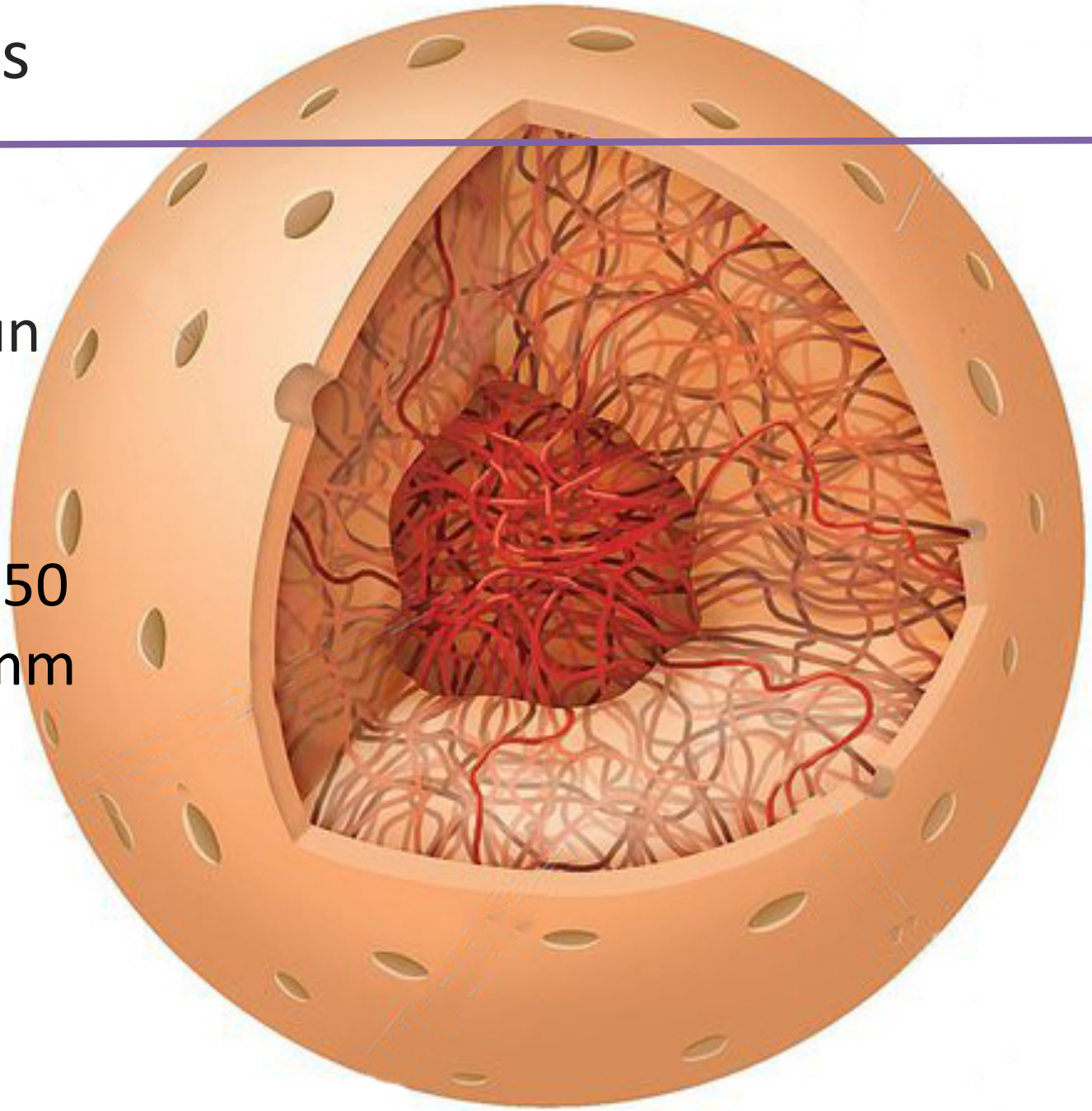
https://www.broadinstitute.org/one-human-assembly-required

Les gènes

https://www.broadinstitute.org/one-human-assembly-required

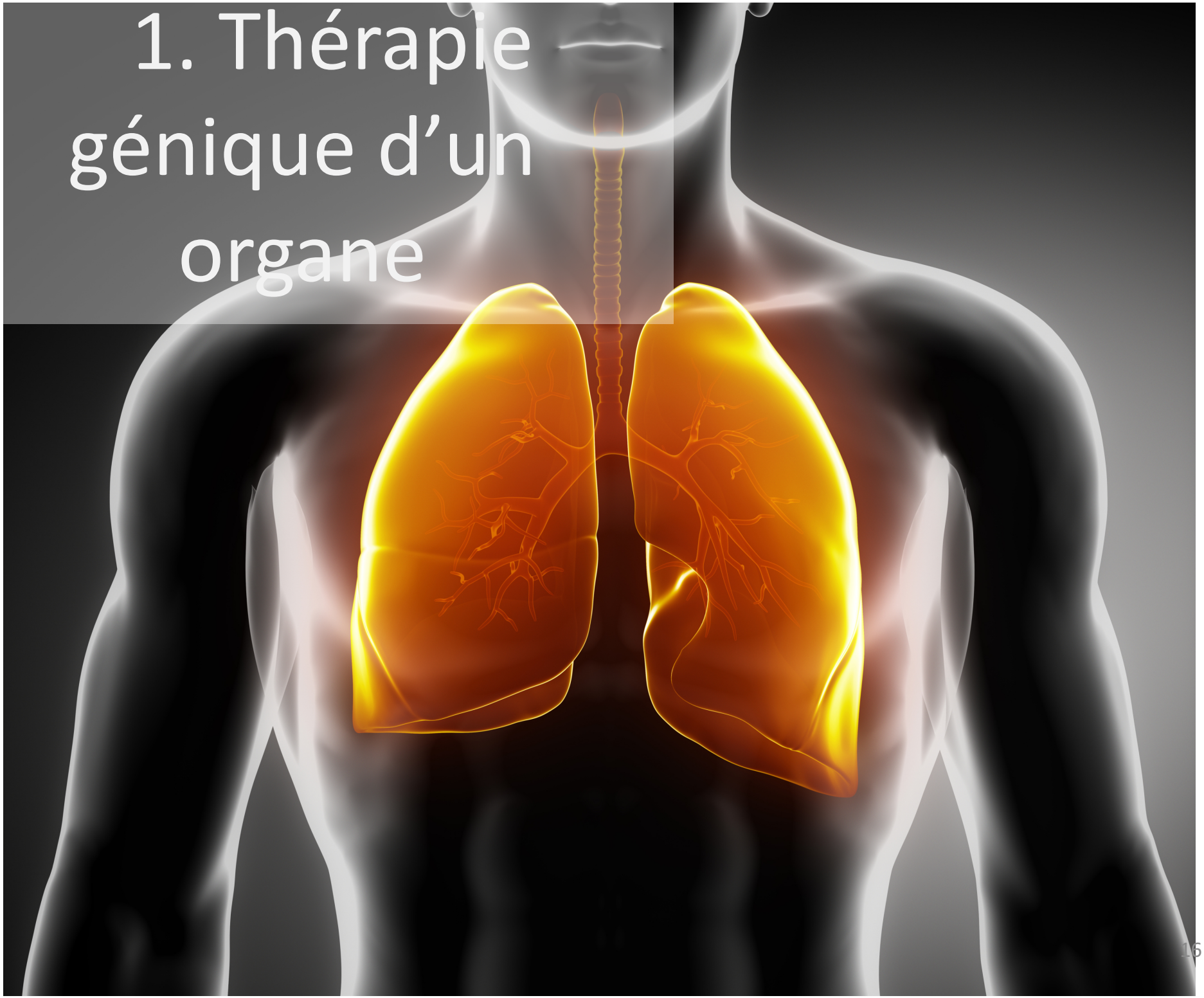
6 x 10^{e}9 caractères

- ADN = 2m dans un noyau de 10 µ!
- A l'échelle d'une salle de classe : 850 km, moins d'un mm de large



ADN : pourquoi le modifier?

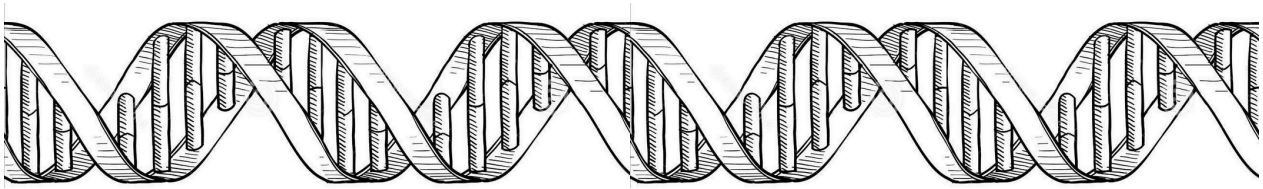
1. Thérapie génique d'un organe



2. Modifier le génome d'un humain

ADN : comment le modifier? CRISPR/Cas9

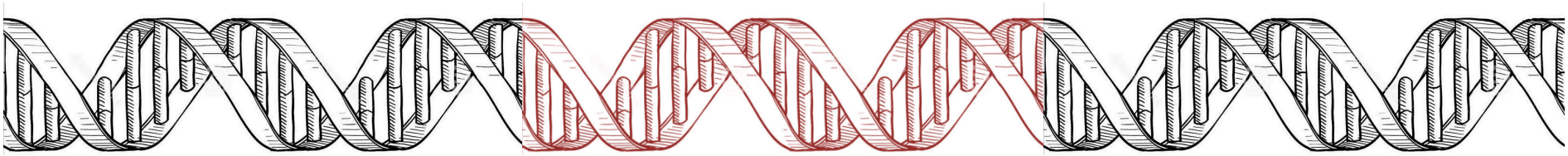
Pour réparer l'ADN, il faut le casser



Pour réparer l'ADN, il faut le casser

Cassure de l'ADN

Réparation



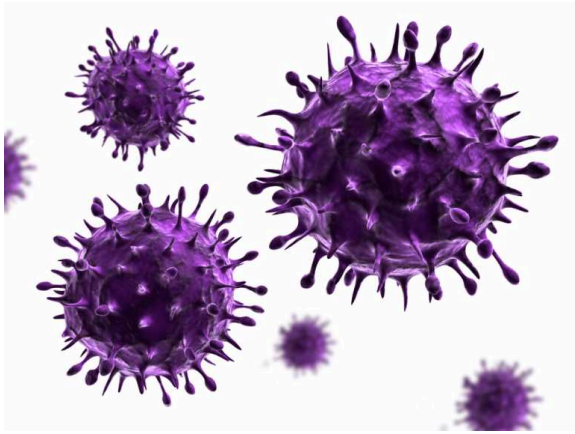
Comment le casser/réparer?

- Attendre une cassure spontanée
  - 1/1 000 000 cellules

Comment le casser/réparer?

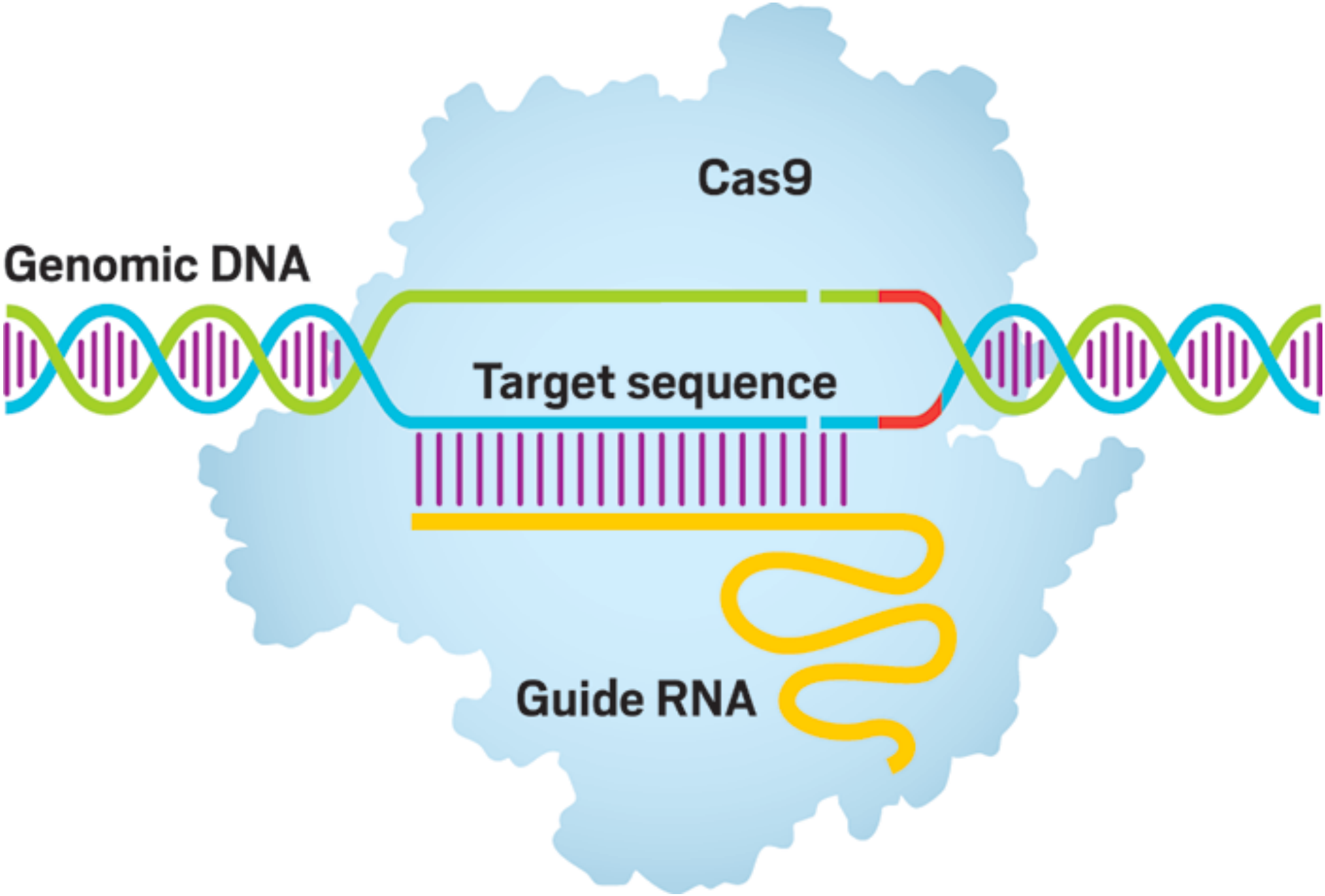
- Attendre une cassure spontanée
  - 1/1 000 000 cellules

- Utilisation d'un virus! (HIV) : applications cliniques (bébé bulles, etc.)

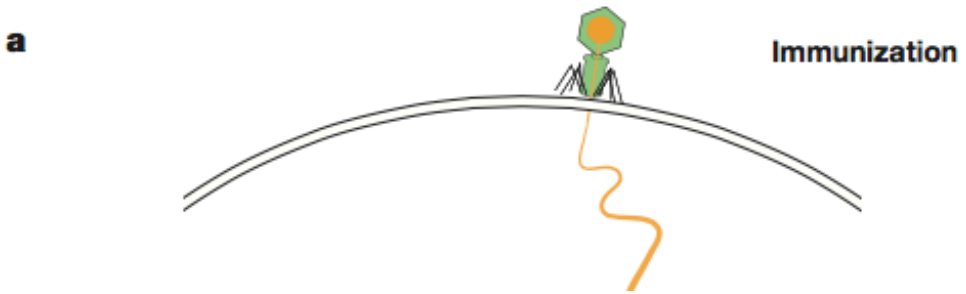


CRISPR/Cas9 : la révolution

Identifié dans la bactérie

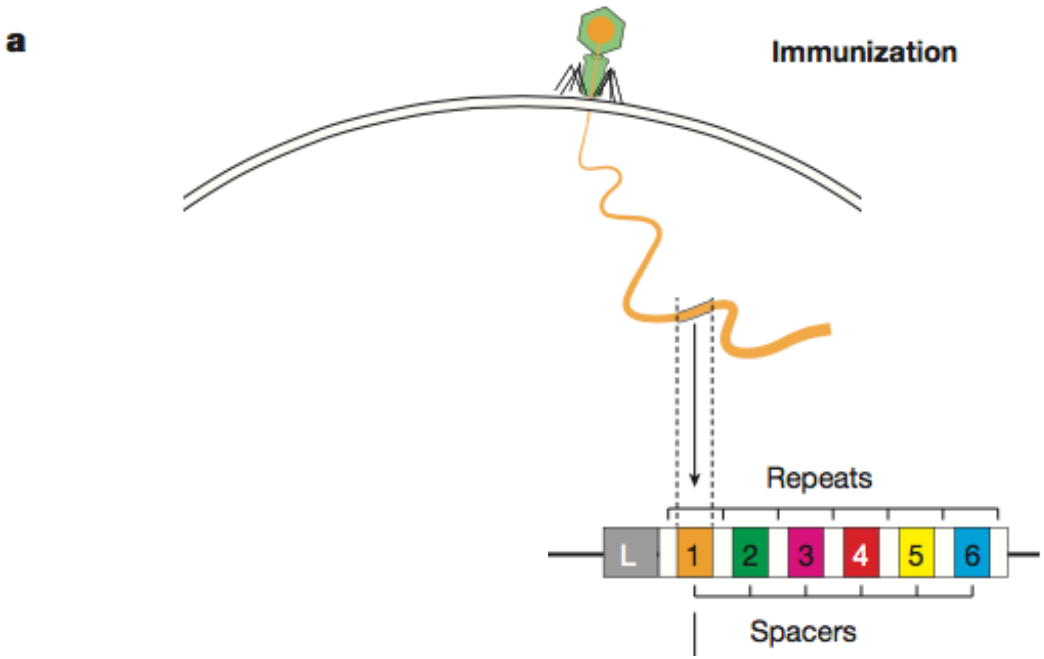

Cas9
Genomic DNA
Target sequence
Guide RNA

Méchanisme bactérien de défense antiviral



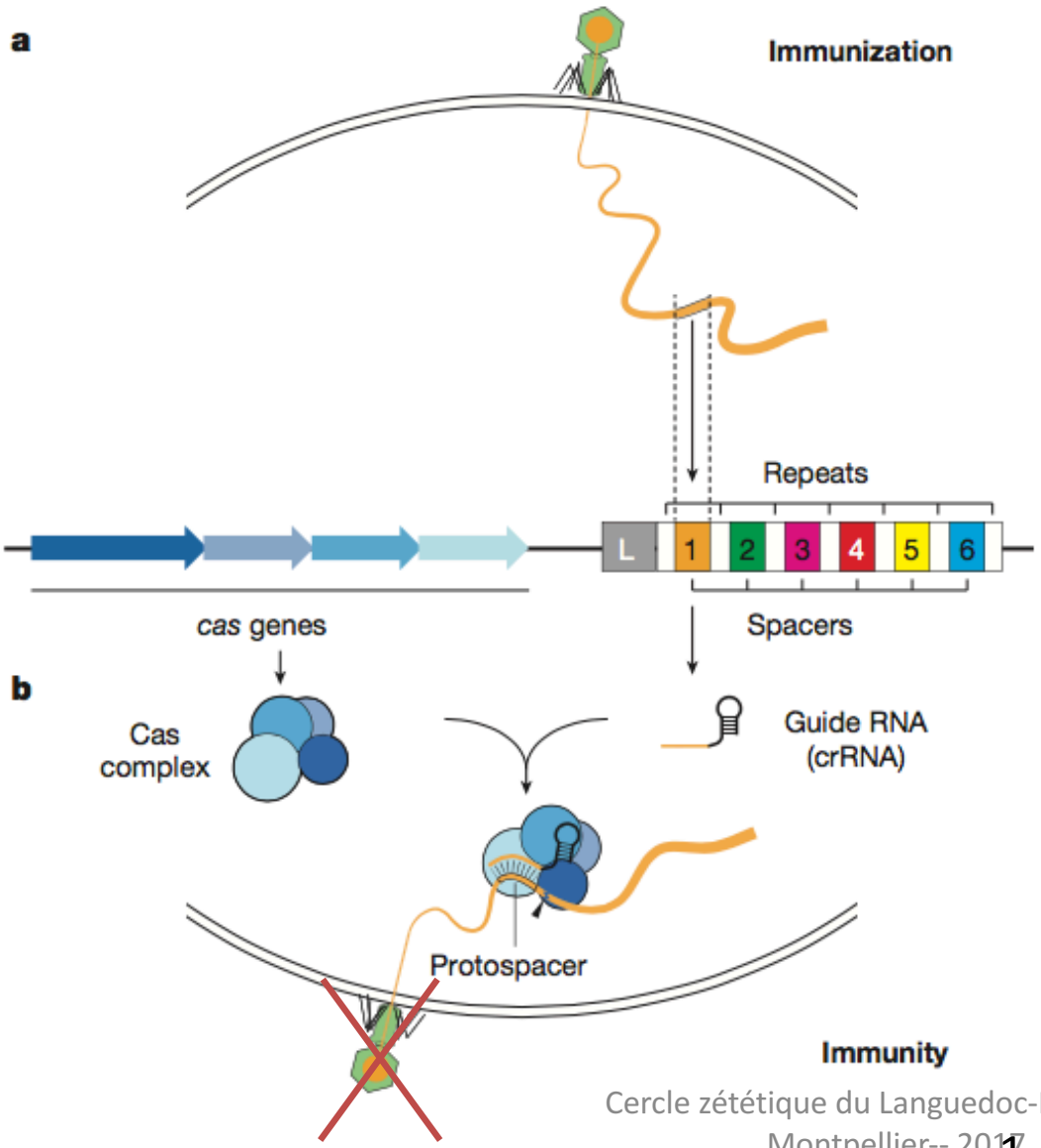
1. Marraffini LA. Nature. 2015;526:55–61.

Méchanisme bactérien de défense antiviral



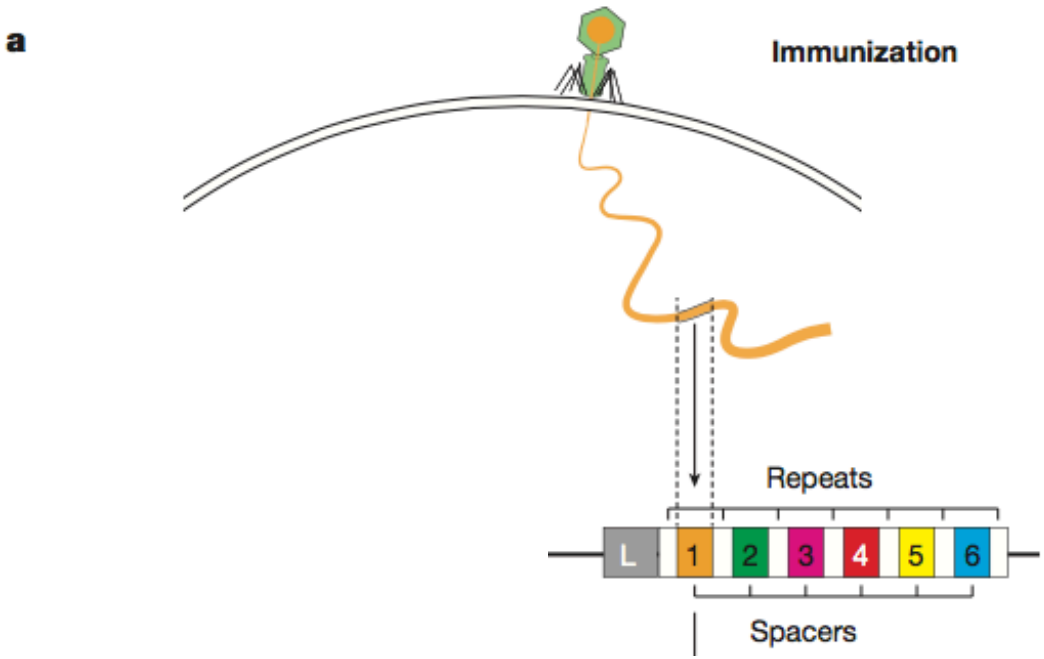
1. Marraffini LA. Nature. 2015;526:55–61.

Méchanisme bactérien de défense antiviral



1. Marraffini LA. Nature. 2015;526:55–61.

Mechanisms of antiviral defence in prokaryotes



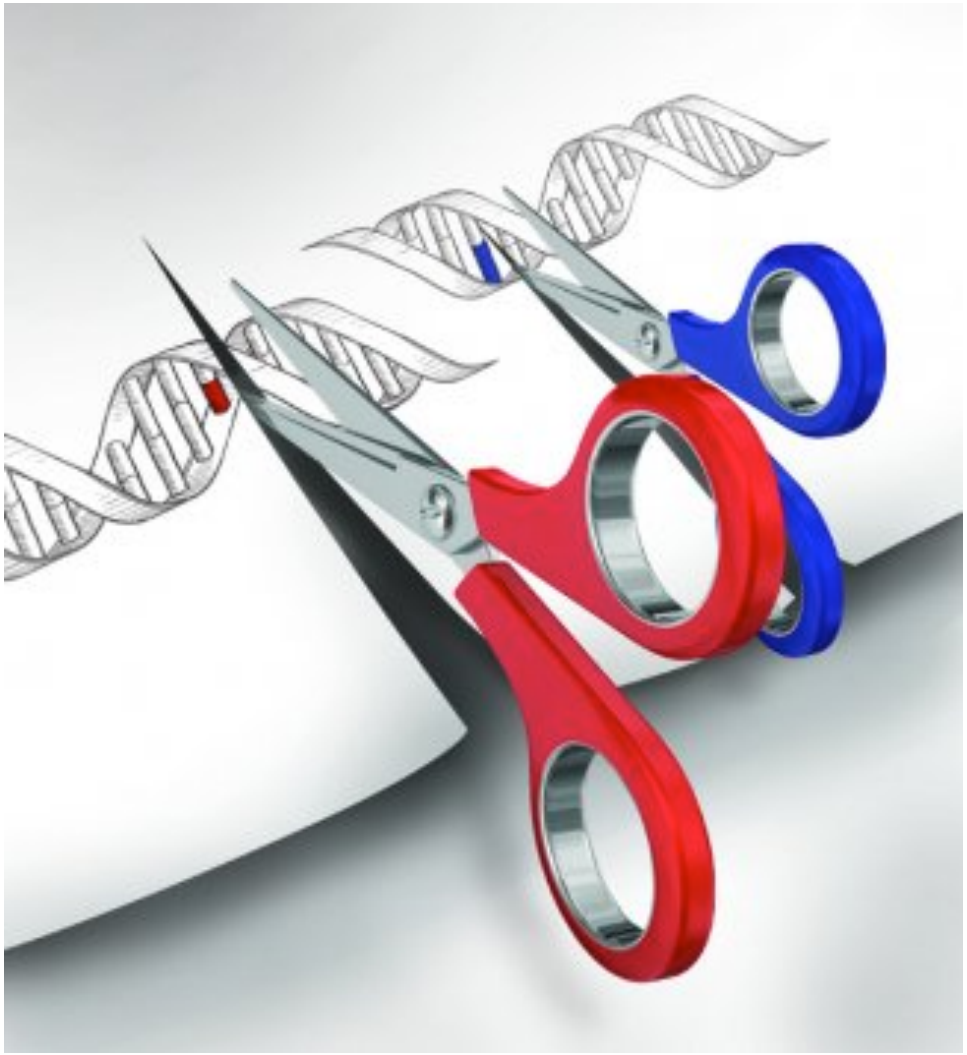
1. Marraffini LA. Nature. 2015;526:55–61.

La chirurgie du gène

- Système de ciseaux pour ADN
- Guidage très précis (guide ARN)
- DANS la cellule
- ~5% de réparation

(vs 1/1 000 000)

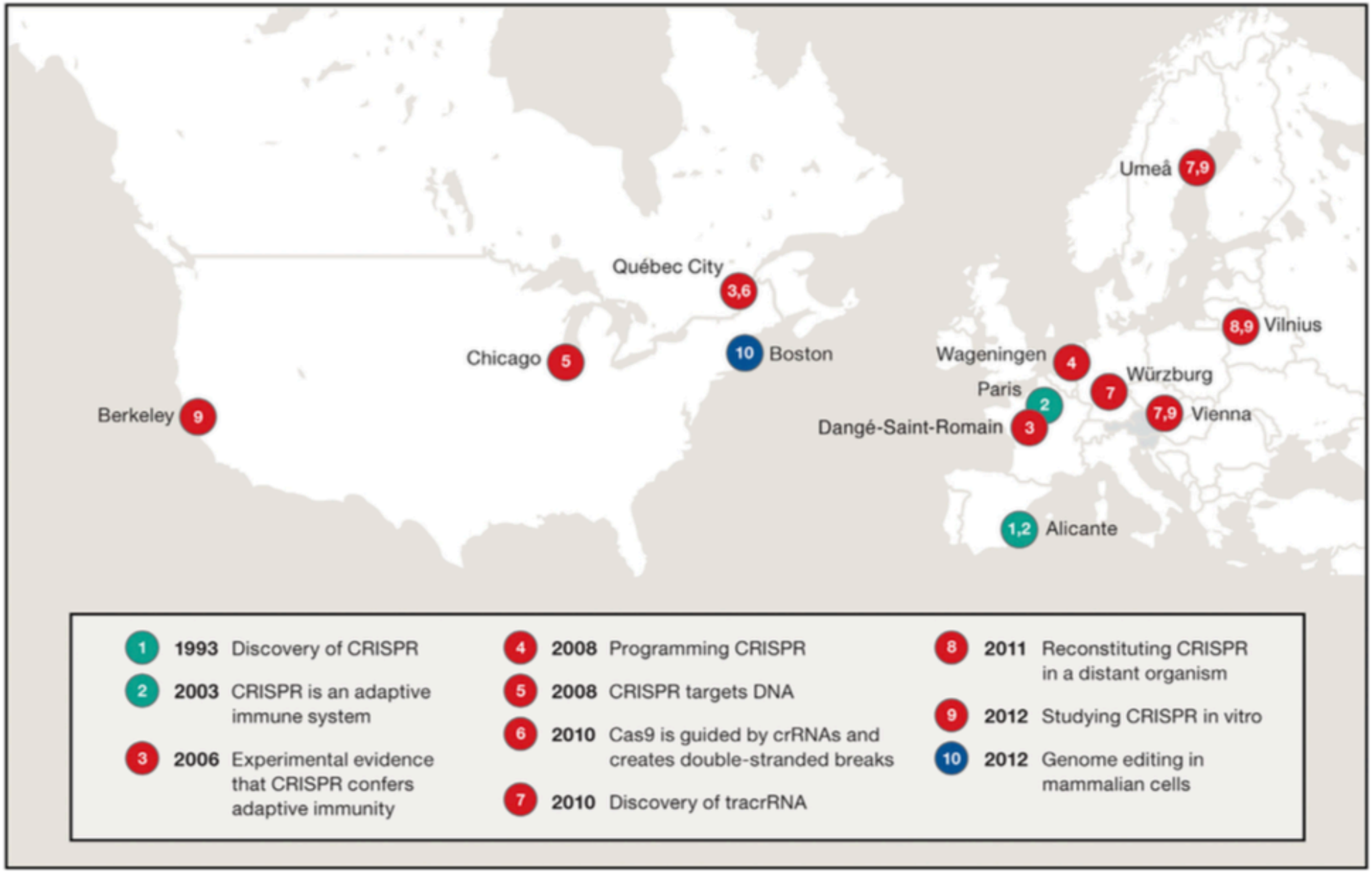
- Très peu onéreux



Améliorations du système

- Au lieu de couper l'ADN, le réécrire

ACAAGATGCCATGAGACAGCGAGCATATGCAGGAAGCGGCAGGAATAAGGAAAAGCAGCCTCC
ACTTTCCTCGCTTGGTGGTTTGAGTGGACCTCCCAGGCCAGTGCCGGGCCCCTCTTAGGAGAGG
GCTCGGGAGGTGGCCAGGCGGCAGGAAGGCGCACCCCCCCAGCAATCCGCGCGCCGGGACAG
TGCCCTCTGGAAGACCCAGTGCCGGTCATTGTCACAAGATGCCATTGTCCCCCGGCCTCCTGCTG
GCTGCTCTCCGGGGCCACGGCCACCGCTGCCCTGCCCCTGGAGGGTGGCCCCACCGGCCGAGA
GCGAGCATATGCAGGAAGCGGCAGGAATAAGGAAAAGCAGCCTCCTGACTTTCCTCGCTTGGTG
TTGAGTGGACCTCCCAGGCCAGTGCCGGGCCCCTCATAGGAGAGGAAGCTCGGGAGGTGGCCA
CGGCAGGCGGTCATTGTC



1. Lander ES. The Heroes of CRISPR. Cell. 2016;164:18–28.

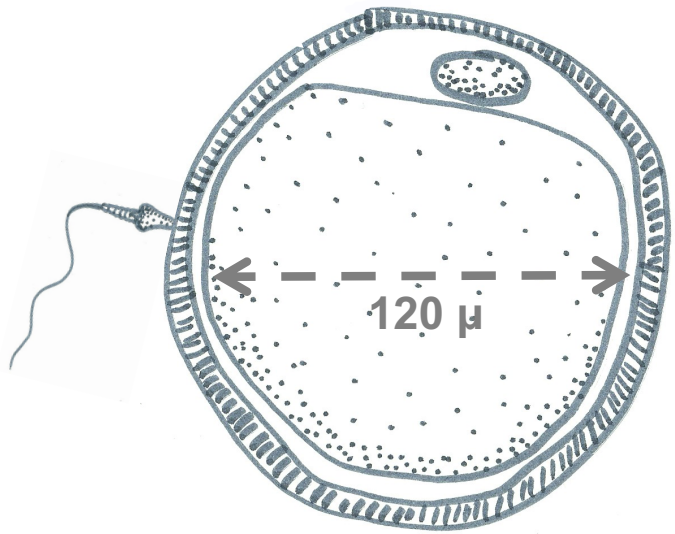
Applications

- Recherche
- Agronomie
- Lutte contre les vecteurs (moustiques)
- Thérapie génique
- Etc.

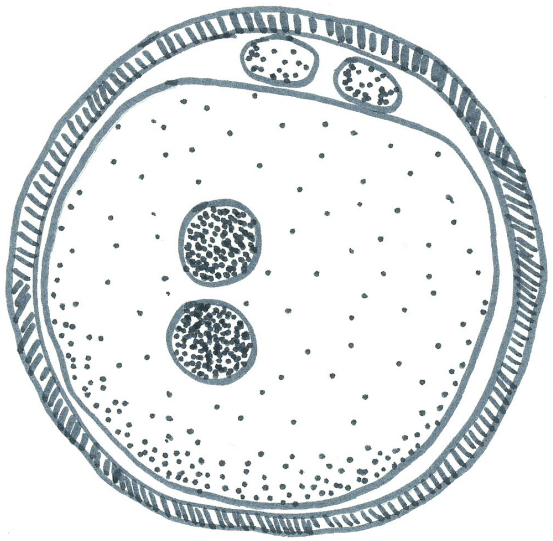
- Modifier l'espèce humaine???

Modifier l'ADN d'un enfant à naître

Votre album photo …



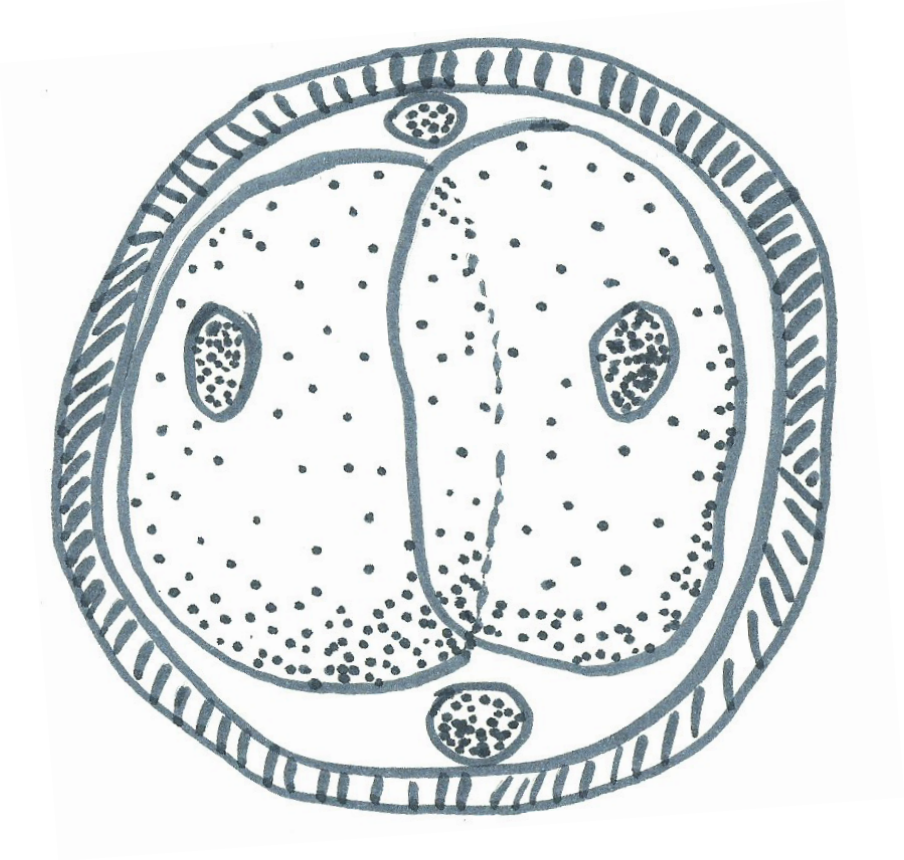
FÉCONDATION

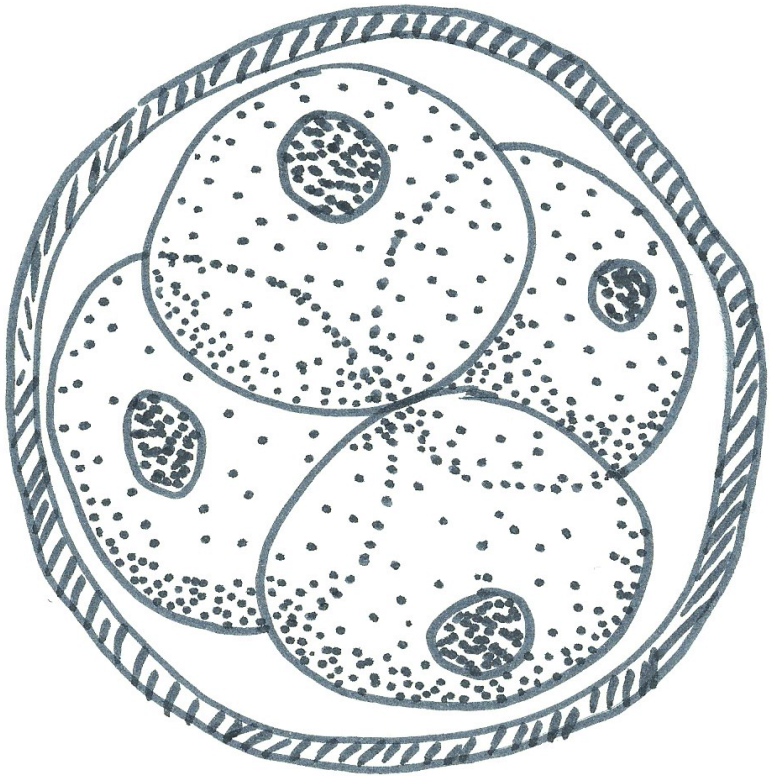


EMBRYON A

1 CELLULE

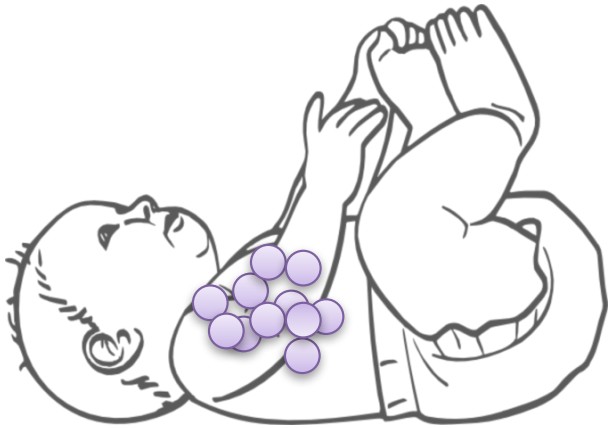
Votre album photo …





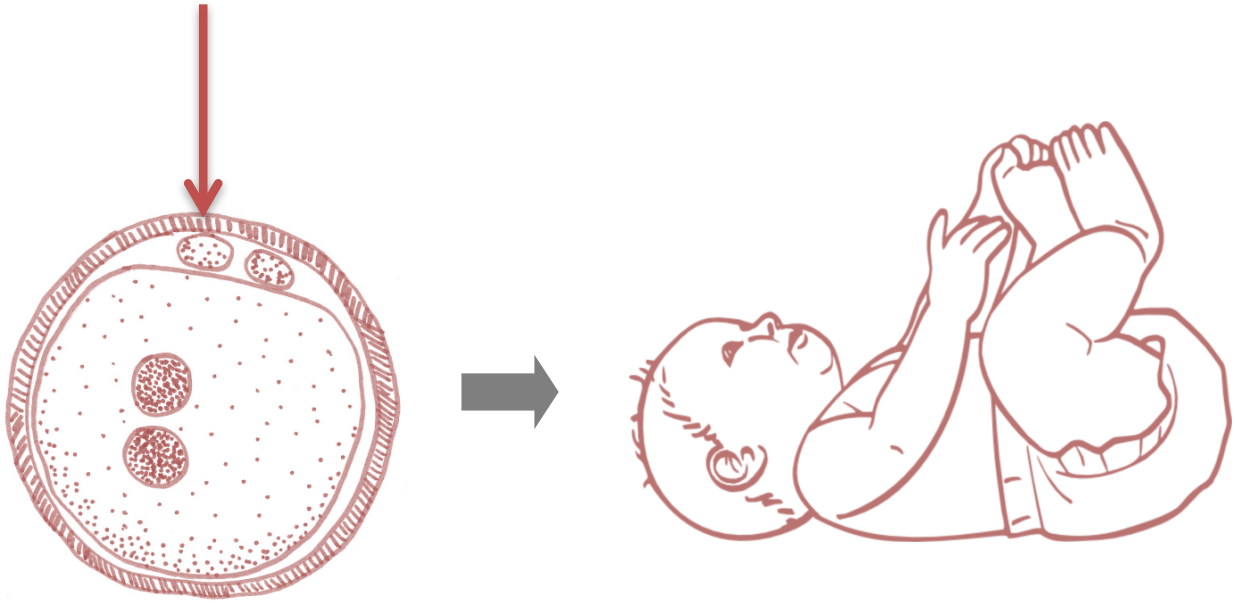
Votre album photo …

Thérapie génique des maladies génétiques

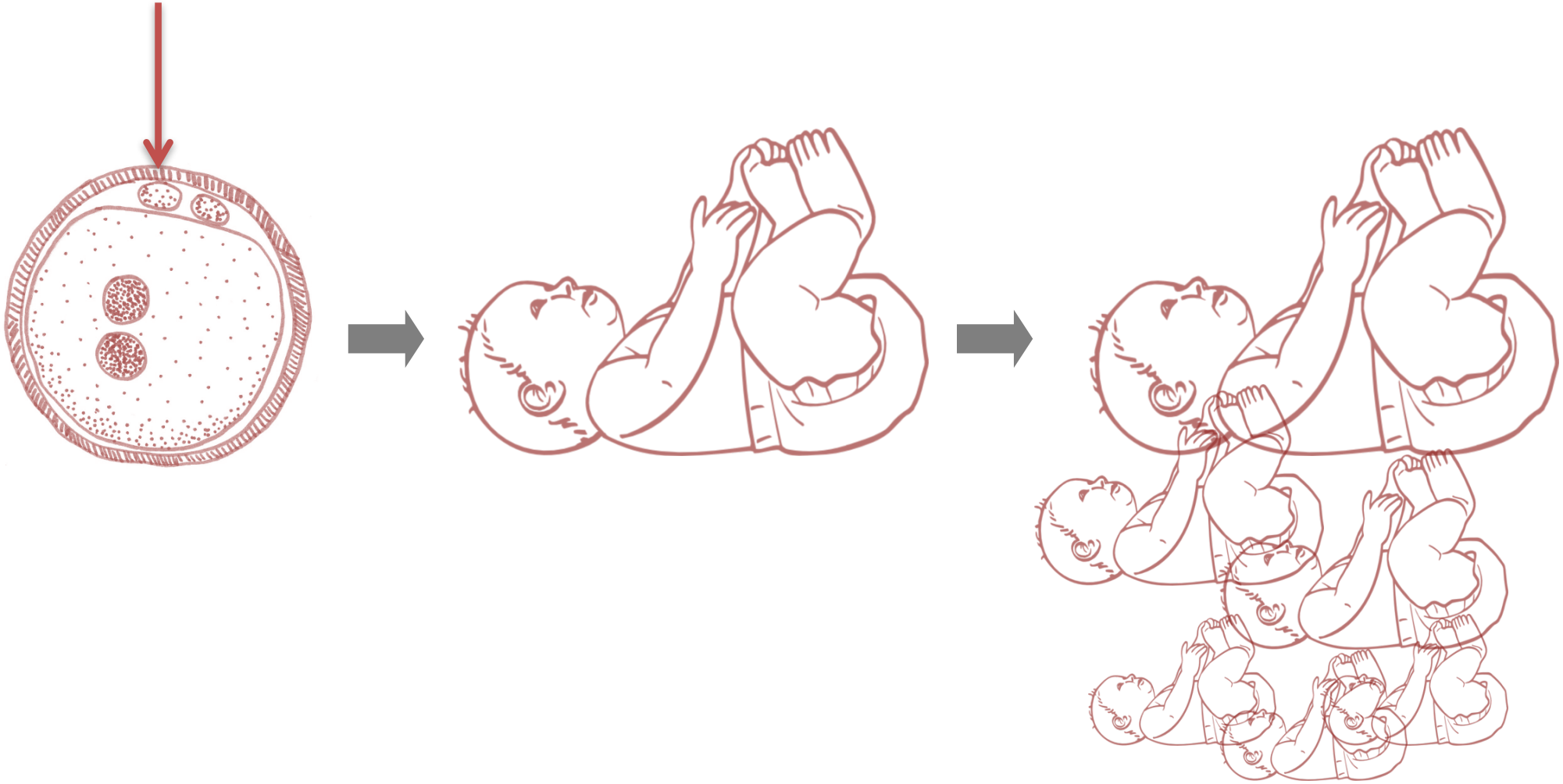


- Exemples :
  - Mucoviscidose (poumon)

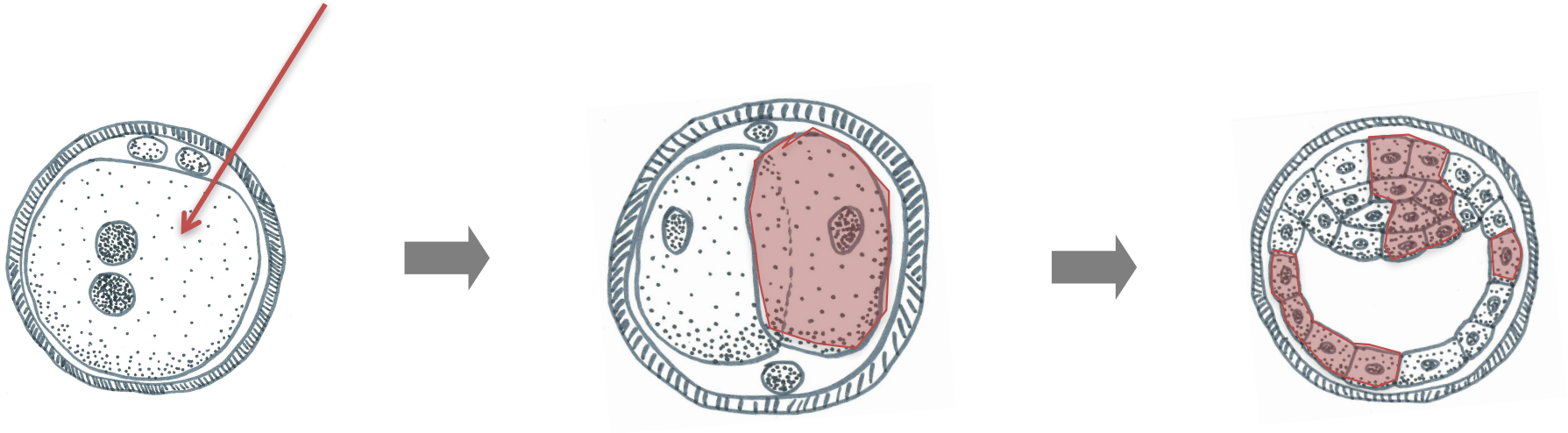
Pourquoi envisager de modifier l'embryon?



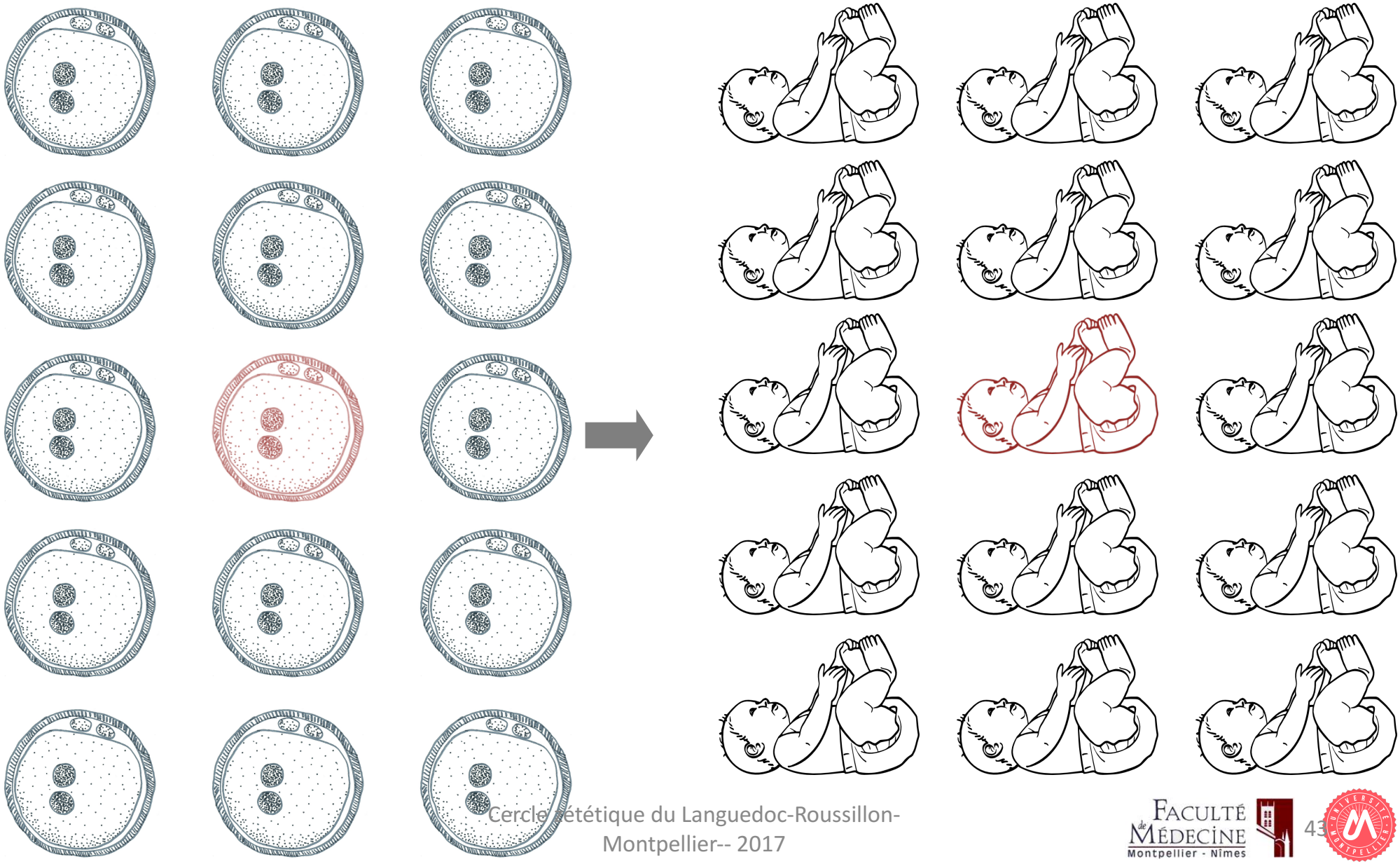
Pourquoi envisager de modifier l'embryon?



Imperfections… mosaïcisme

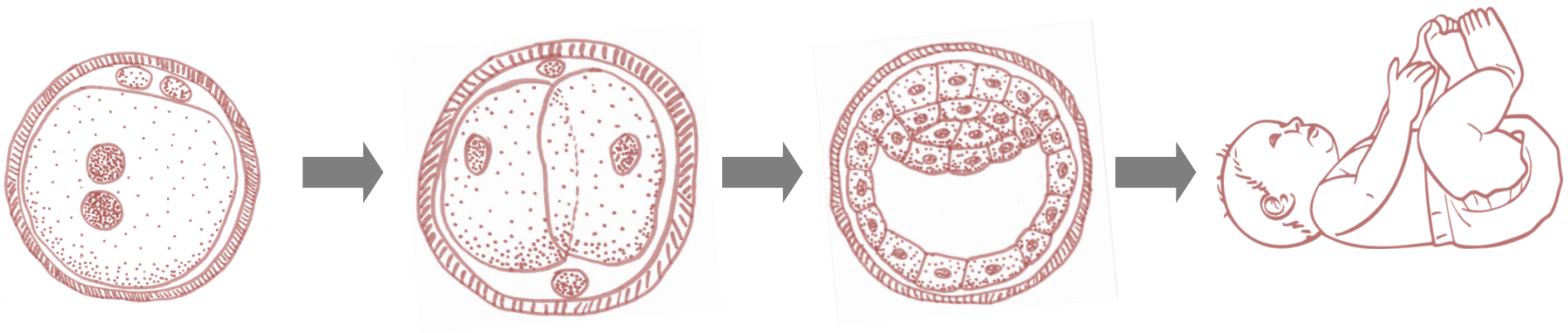


Imperfections… ; efficacité : 5%

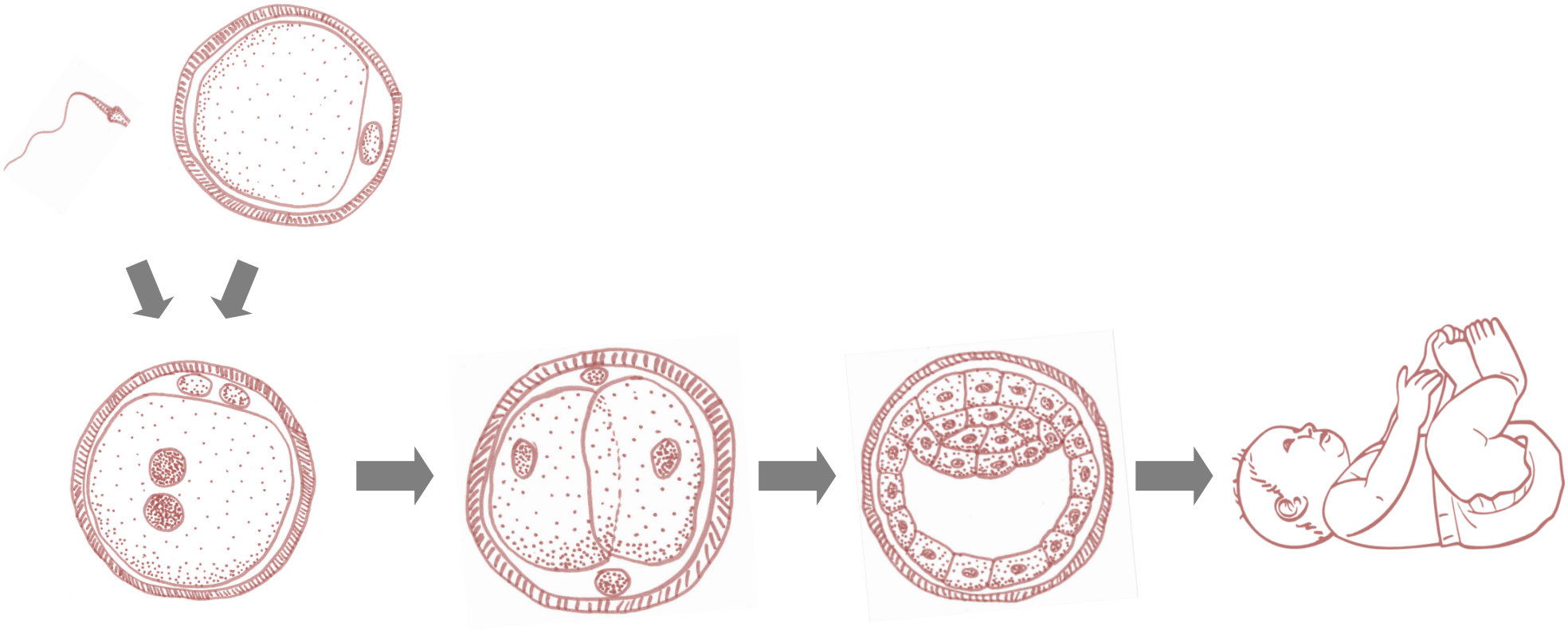


ALORS?

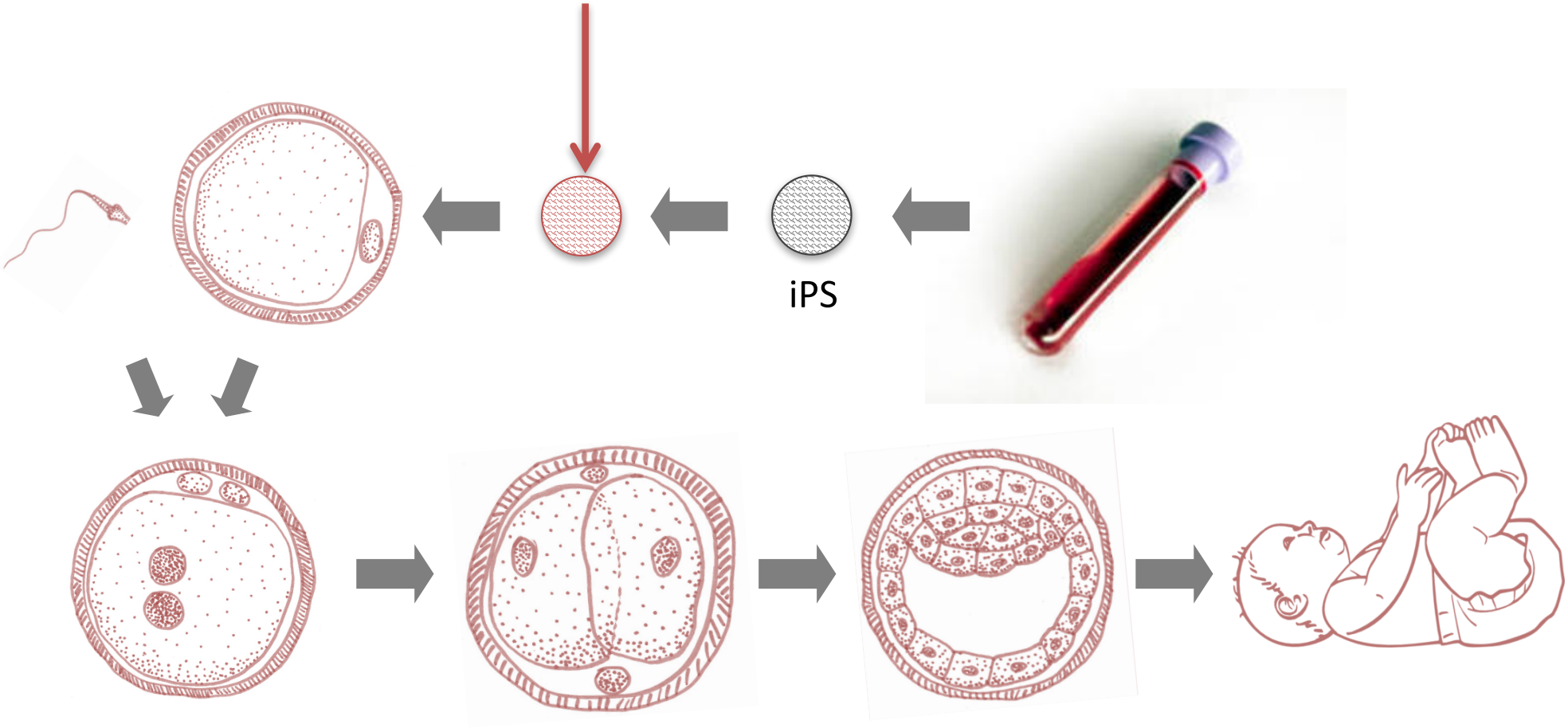
Plutôt que modifier l'embryon …



… modifions les gamètes



Grâce aux iPS (induced pluripotent stem cells)



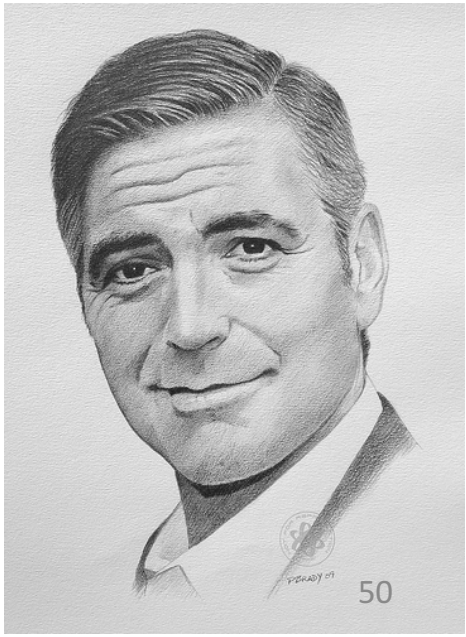
Applications

- Corriger les infertilités de causes génétiques

Prévenir la naissance d'un enfant gravement malade

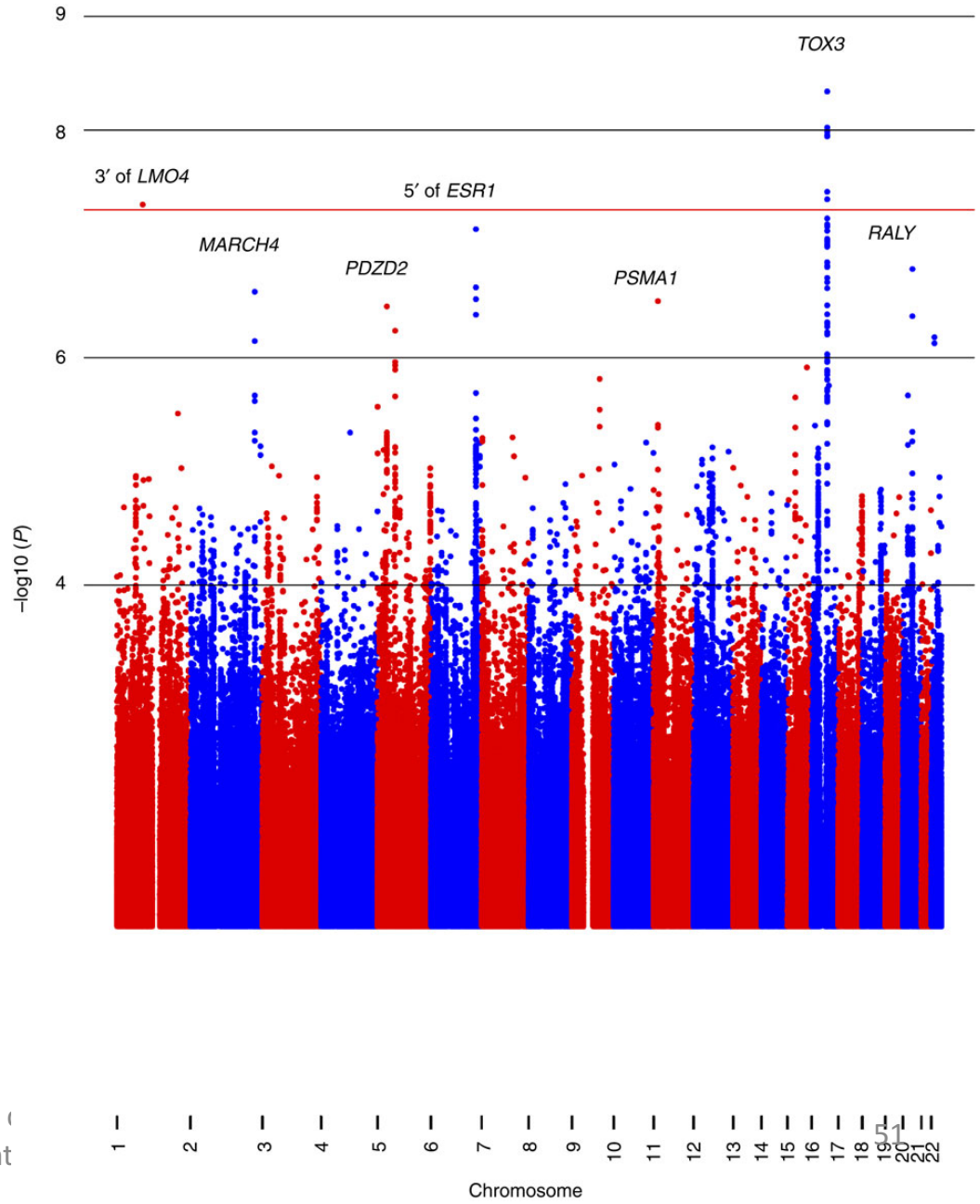
- Eviter les maladies génétiques graves (mucoviscidose)
- Mais il existe le diagnostic pré-implantatoire (DPI)
- Couples atteints de la même mutation génétique grave (pas si exceptionnel) : exemple deux patients atteints de mucoviscidose

WHAT ELSE?..



« Nettoyer » notre génome?

- Exemple : facteurs de risque génétique du cancer du sein



« Nettoyer » notre génome?

- Gommer les « anomalies » et les corriger
- Facteur de risque de diabète, d'infarctus, etc.

Eviter des traits perçus comme handicap

Choisir un enfant parfait?

- Sa taille, sa force, sa beauté, son QI, sa durée de vie, etc…
- Sur catalogue?
- NB : on ne connaît pas encore le(s) gène(s) de ces caractères!

Interdiction : est-ce éthique?

- Interdire la modification du génome de l'embryon?
- NB : en Europe la Convention d'Oviedo l'interdit
- Ethique? (cf. l'exemple du couple de mucoviscidose)
- Tenable? (ne souhaiteriez vous pas « nettoyer » votre génome pour vos enfants?)

Calico

We're tackling aging, one of life's greatest mysteries.

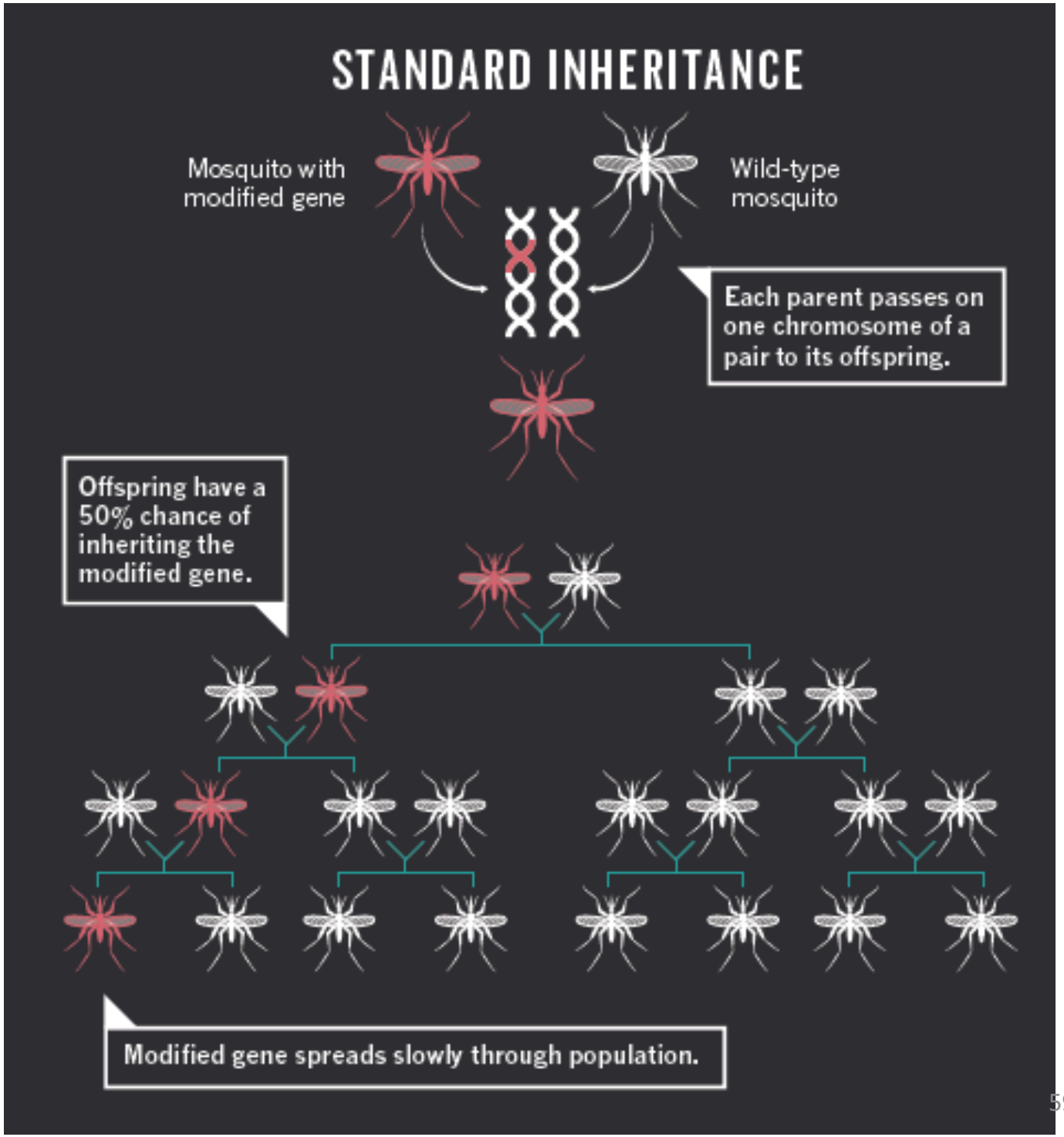
Calico is a research and development company whose mission is to harness advanced technologies to increase our understanding of the biology that controls lifespan. We will use that knowledge to devise interventions that enable people to lead longer and healthier lives. Executing on this mission will require an unprecedented level of interdisciplinary effort and a long-term focus for which funding is already in place.

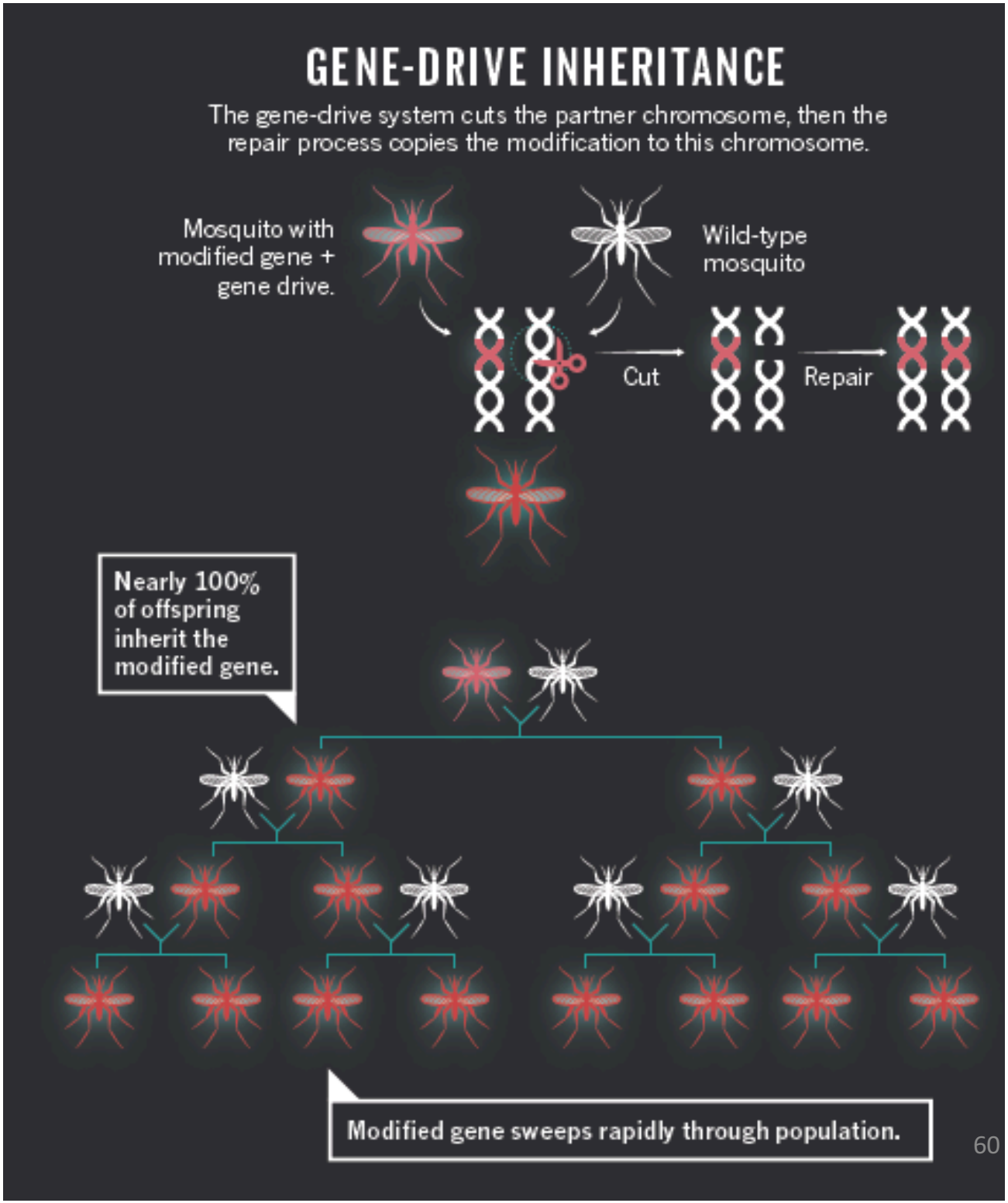
L’humain « augmenté »?

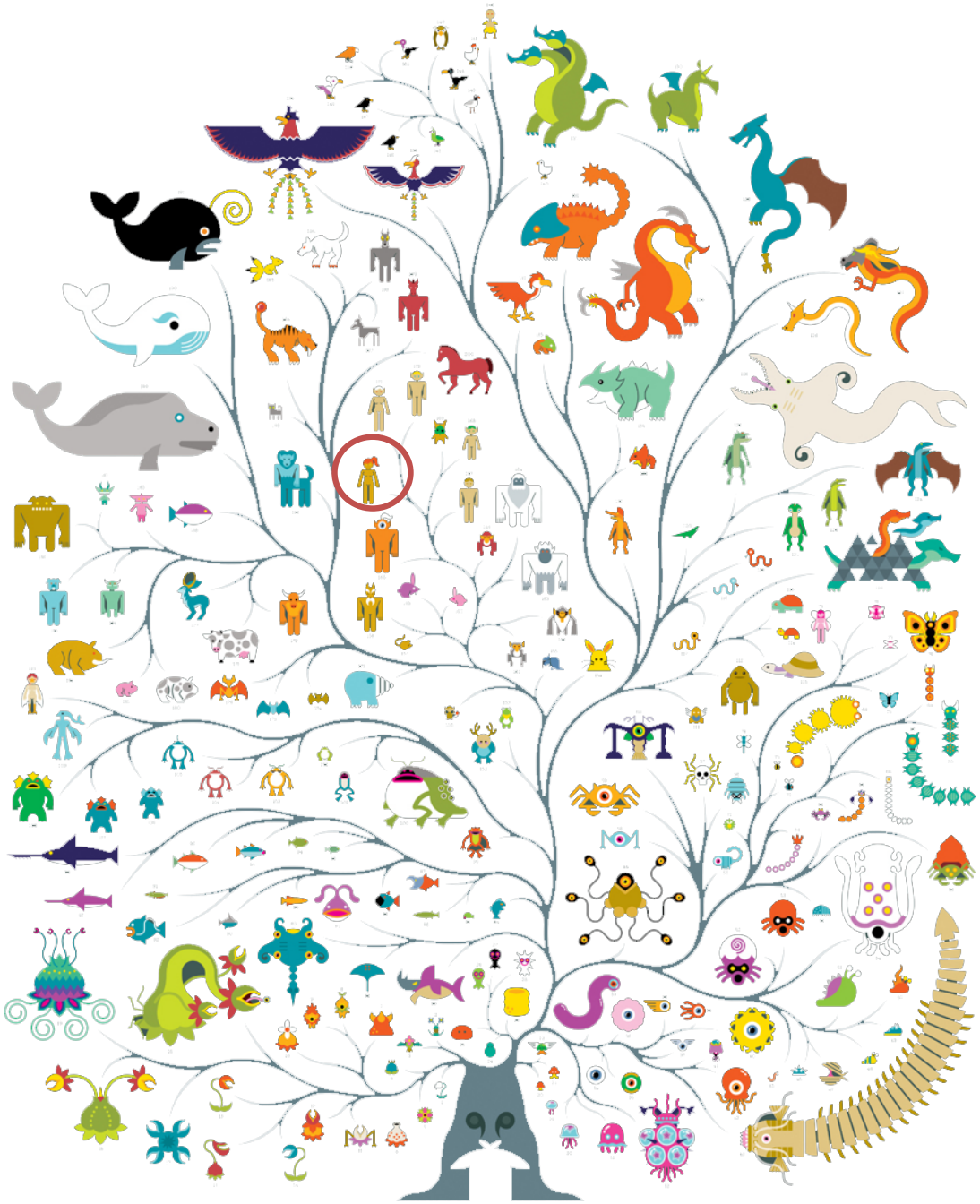
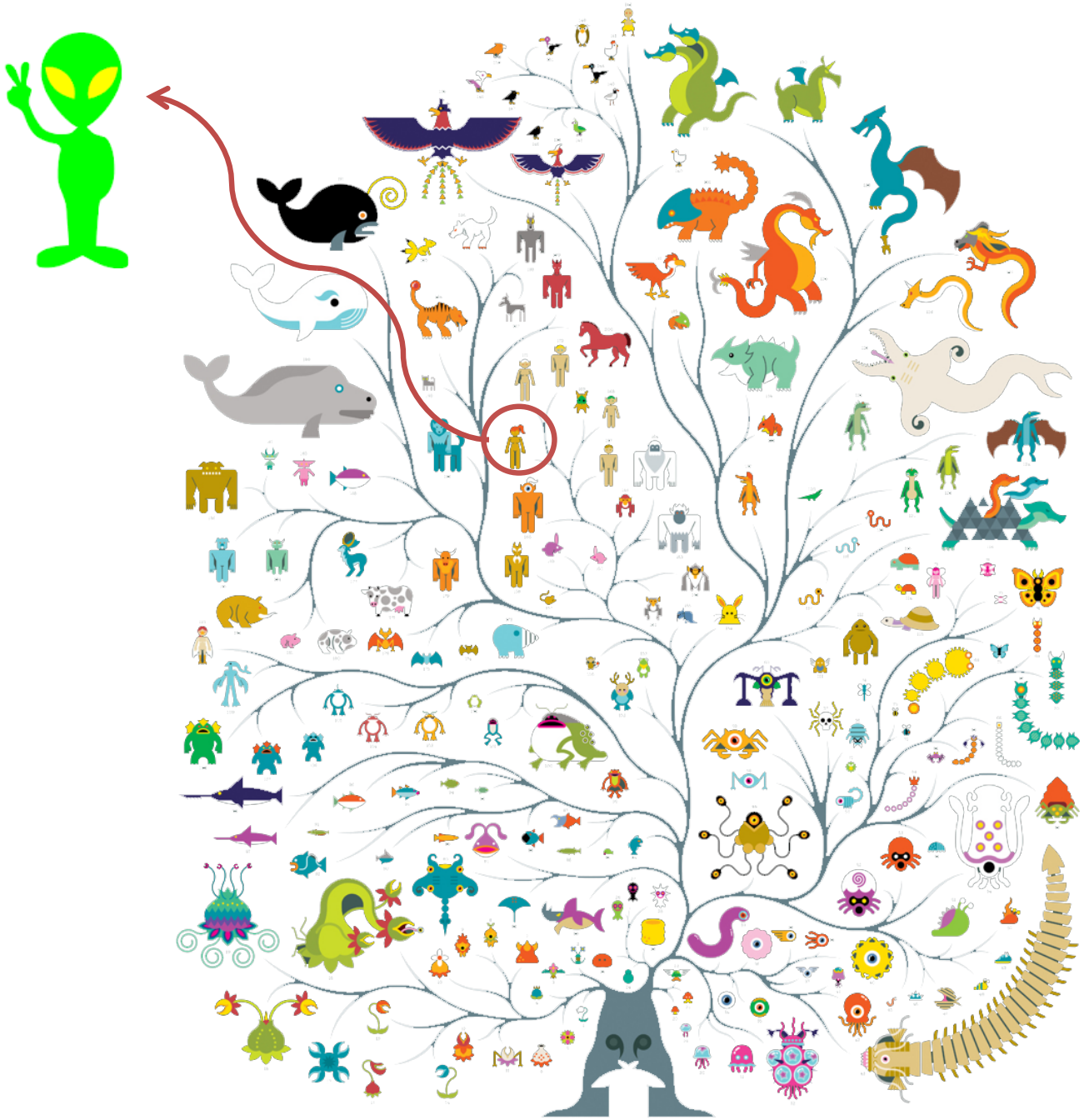
- Augmenter:
  - le QI
  - la force
  - la durée de vie
  - Etc…

Gene drive : modifier la nature

GENE DRIVE


STANDARD INHERITANCE
Mosquito with modified gene
Wild-type mosquito
Each parent passes on one chromosome of a pair to its offspring.
Offspring have a 50% chance of inheriting the modified gene.
Modified gene spreads slowly through population.


GENE-DRIVE INHERITANCE
The gene-drive system cuts the partner chromosome, then the repair process copies the modification to this chromosome.
Mosquito with modified gene + gene drive.
Wild-type mosquito
Cut
Repair
Nearly 100% of offspring inherit the modified gene.
Modified gene sweeps rapidly through population.

Conclusion

- La modification du génome humain était un concept abstrait; à cause de CRISPR/Cas9, cela va devenir une réalité à moyen terme.
- Prédiction : dans les 5 ans, application au singe rhésus en Chine. Et après?...