Excitation et crispations autour de CRISPR : lorsque la réalité dépasse la science-fiction

Elation and crispations about CRISPR: when truth is stranger than science-fiction

Jean-Claude Kaplan

C'est un clin d'œil appuyé que le dinosaure émérite vous adresse aujourd'hui. Il est déclenché par une percée méthodologique de première grandeur qui bouleverse la donne en matière de biologie fondamentale et appliquée, myologie comprise. Il s'agit de CRISPR-Cas9, ce scalpel moléculaire qui « fait le buzz » (*Encadré 1*). En fait, bien plus que d'une mode, il s'agit d'une véritable révolution, car en permettant l'édition génomique (*Encadré 2*) cet outil constitue un véritable saut qualitatif. À cet égard, on peut l'assimiler à ce qu'ont représenté les enzymes de restriction dans les années 1970 et la PCR dans les années 1980. En effet, la méthode CRISPR-Cas9 permet de modifier à volonté et à l'endroit désiré la séquence de l'ADN génomique de n'importe quel organisme, aussi bien *ex vivo* qu'*in vivo*, avec une facilité déconcertante et à un prix dérisoire. Élaboré par les biologistes Emmanuelle Charpentier et Jennifer

Doudna il y a à peine 4 ans, le procédé a très vite suscité un intérêt considérable, attesté par l'explosion du rythme des publications, qui est passé de 29 articles par mois en 2013 à 115/mois en 2015, cadence encore doublée pendant le premier trimestre 2016. Comme toute invention majeure, la technologie CRISPR-Cas9 suscite non seulement des espoirs mais des craintes, d'autant plus médiatisés que les enjeux scientifiques et sociétaux sont considérables.

Un engouement sans précédent dans l'histoire de la biologie

• L'envol de CRISPR

Très vite l'outil CRISPR-Cas9 - perfectionné par les chercheurs de tous bords qui se sont engouffrés dans la brèche ouverte en 2012 par le tandem Emmanuelle/Jennifer et ont fait assaut d'ingéniosité pour

1 CRISPR-Cas9 : l'acronyme et au-delà

• **CRISPR** est l'acronyme de *Clustered Regularly Interspaced Short Palindromic Repeats*, nom d'un motif présent dans le génome des procaryotes. **Cas** est l'acronyme de *CRISPR ASSociated gene* et désigne une famille de gènes spécifiant des endonucléases bactériennes.

• **Cibler/couper/recoller pour réparer, abolir voire créer :**

L'outil **CRISPR-Cas9** est un instrument forgé de toutes pièces par la main de l'Homme, en l'occurrence de deux femmes, Emmanuelle Charpentier et Jennifer Doudna^{1,2}. En s'inspirant d'un mécanisme complexe d'immunité adaptative des procaryotes contre l'invasion de leur génome par des séquences mobiles exogènes^{3,4}, elles ont conçu un dispositif ribonucléoprotéique d'**édition génomique programmable** comportant la protéine **Cas9**, une endonucléase bactérienne qui joue le rôle de ciseau coupant les deux brins de l'ADN cible, attelée à un **ARN guide** inspiré du modèle bactérien CRISPR auquel est ajoutée une séquence de 20 nucléotides complémentaires de la cible choisie*, jouant le rôle de tête chercheuse ultra-spécifique. **La protéine Cas9** est une pièce universelle disponible dans toutes les quincailleries moléculaires, le segment d'**ARN guide** est aisément synthétisé à façon selon la cible que l'on veut atteindre. Au niveau de la coupure, on peut enlever, rajouter, substituer, réparer, le rétablissement de la continuité des deux brins étant assuré par les systèmes de réparation endogènes**.

* Reposant sur une reconnaissance de type Watson-Crick (G/C, T/A).

** Le raboutage est approximatif dans le mode dit *NHEJ* (*Non Homologous End Joining*) qui introduit des micro-insertions ou délétions (*indels*) mises à profit pour les manipulations invalidantes. Pour les manipulations correctrices, où il faut obtenir une reconstitution parfaite au niveau des points de cassure, on doit mettre en jeu le mode *HDR* (*Homology Directed Repair*) qui nécessite la présence d'une séquence modèle.

Jean-Claude Kaplan

Institut Cochin,
Faculté de Médecine
Paris-Descartes,
Paris, France

Contact

jeanclaude.kaplan@
gmail.com

2 Pas de crispation terminologique autour du terme « édition » génomique

Les manipulations génomiques permises par CRISPR-Cas9 consistent à opérer ce que les Anglo-Saxons appellent un *genome editing*. L'expression n'est pas traduisible littéralement en français car le mot *edition* est un faux ami. En anglais, il désigne la correction d'erreurs typographiques, orthographiques ou syntaxiques, avec, éventuellement, améliorations ponctuelles du texte au sens où on l'entend pour la révision d'un manuscrit ou d'un jeu d'épreuves imprimées, ce qui est exactement le but recherché avec CRISPR-Cas9. En français classique, « éditer » signifie publier, ou faire paraître un texte et éventuellement le diffuser. Parmi les équivalents linguistiquement corrects, les désignations « modifications ciblées du génome » ou « ingénierie du génome » ont la faveur de l'Académie de Médecine⁵. En fait, il suffit de se reporter au Dictionnaire Historique de la Langue Française d'Alain Rey⁶ qui avalise l'acception anglaise, déjà en vigueur dans le vocabulaire informatique français, pour adopter une fois pour toutes et sans réticence l'expression « édition génomique ».

l'améliorer^{7,8,9} -, s'est avéré efficace au-delà de toute espérance. De plus, il est d'exécution facile et son coût est dérisoire comparé à celui des autres procédés de modification génomique ciblée (méga-nucléases, protéines à doigt de Zn, effecteur trans-activateurs de type TALEN) qui sont plus coûteux, et moins efficaces¹⁰. En l'espace de trois années, il a été appliqué avec succès dans tous les domaines de la génétique moléculaire et dans un nombre croissant d'espèces, y compris chez *H. sapiens*. Il est apparu qu'on tenait là un outil d'une formidable puissance utilisable en génomique fondamentale et appliquée, en biomédecine, en biotechnologie. En ce qui concerne l'Homme et les recherches biomédicales, le premier acquis incontestable a été le pouvoir de produire n'importe quelle mutation ayant un intérêt médical dans le génome de n'importe quelle espèce animale y compris les primates non-humains, ceci aux fins d'élargir la panoplie des modèles animaux expérimentaux¹¹. Par exemple, en myologie, l'une des premières réalisations a consisté à enrichir la palette des modèles animaux de dystrophinopathie (rat¹², singe rhésus¹³).

La méthode CRISPR-Cas9 a été très vite utilisée à des fins thérapeutiques et on a assisté à une explosion de travaux visant à apporter des preuves de concept - les POC du *Clin d'œil* précédent¹⁴ - laissant espérer que l'édition génomique pourrait être exploitée à des fins médicales^{15,16,17} : (1) pour la correction *in situ* de mutations pathogènes constitutionnelles (maladies génétiques monogéniques) ou somatiques (cancers¹⁸) ; (2) pour la destruction du génome d'agents infectieux viraux (HIV¹⁹, HBV²⁰, HPV²¹) ; (3) pour l'élimination des insectes vecteurs d'organismes pathogènes²².

• Quelques pépites dans la moisson de résultats obtenus chez l'animal

Depuis l'article princeps [1], la plupart des 2 600 publications relatives à CRISPR visent à perfectionner la méthode et à démontrer que l'édition génomique est opérationnelle dans des modèles expérimentaux très variés. Beaucoup moins vont au-delà pour analyser les conséquences biologiques des

modifications introduites. Parmi les réalisations les plus significatives dans le domaine biomédical voici quelques exemples spectaculaires donnés dans l'ordre chronologique :

- 2014 : obtention de réarrangements chromosomiques reproduisant des situations observées en oncologie²³ ;
- 2015 : élaboration de la méthode MCR (*Mutagenic Chain Reaction*) où une modification hétérozygote agit en *trans* de manière autocatalytique pour obtenir l'homozygotie en court-circuitant la transmission mendélienne²⁴. Ce procédé d'abord validé chez la *Drosophile* a été appliqué chez l'*Anophele* vecteur de l'agent du paludisme. Il permettrait par un mécanisme appelé « *gene drive* »²⁵ d'éliminer complètement les espèces propageant des maladies parasitaires, et par exemple d'éradiquer le paludisme [22].
- 2016 : l'année a commencé en fanfare avec les premiers possibles succès thérapeutiques obtenus par édition génomique post-natale de modèles animaux après injection par voie systémique de l'outil CRISPR-Cas9. Ces POC ont été apportées notamment dans le modèle murin de tyrosinémie²⁶, et chez la souris *mdx* modèle murin de dystrophinopathie^{27,28,29,30}. Dans ce dernier cas, l'édition consistait à faire sauter l'exon 23 du gène *dmd* porteur d'une mutation stop pour rétablir le cadre de lecture. Ici le saut d'exon thérapeutique a lieu au niveau génomique, c'est donc un *exon snipping*³¹ et non un *exon skipping* lequel intervient au niveau de l'épissage³². L'effet thérapeutique est *a priori* pérenne dans les myocytes post-mitotiques et une injection unique devrait suffire³³. De plus, le génome des cellules satellites semble être accessible à l'édition [30].

• Une ambiance de ruée vers l'or

Une véritable course de vitesse s'est engagée entre les laboratoires académiques renommés, les grands groupes pharmaceutiques. C'est à qui sera le premier à apporter sa POC, source d'espoirs thérapeutiques, et, en attendant la première guérison, source de prestige et de brevets. Les *start-up* fleurissent, les capitaux affluent, Wall-Street est en effervescence.

Cette ruée vers l'or s'explique par la rapide confirmation expérimentale de l'efficacité de l'outil, tant à l'échelle cellulaire qu'à l'échelle de l'organisme entier. Pourtant, dans cette frénésie, des sujets de préoccupations se font jour dans le monde scientifique et sont désormais sur la place publique.

Les crispations à propos de CRISPR

Elles se cristallisent autour d'un conflit de brevets et de la question de l'édition du génome humain germlinal. Dans les deux cas, l'éthique est en jeu et le retentissement médiatique est considérable³⁴.

• Qui a inventé CRISPR-Cas9 ?

Cette question a trait à la guerre des brevets qui oppose les Universités de Vienne et de Californie-Berkeley, tutelles des inventrices de la méthode (Emmanuelle Charpentier et Jennifer Doudna), et dont le brevet déposé en 2012 n'a pas encore été octroyé, au *Broad Institute* Harvard/MIT auquel appartient Feng Zhang, qui dans les mois ayant suivi la publication princeps [1] a perfectionné l'outil en l'appliquant avec succès à des eucaryotes (souris et homme) et obtenu un brevet par une procédure d'urgence. La bataille, qui ne met pas en jeu les chercheurs mais leurs universités, seules détentrices des droits potentiels, risque d'être longue et acharnée car il y a des milliards à la clé. Ces tensions qui défraient la chronique^{35,36}, ont été ravivées par un remarquable article d'Éric Lander³⁷, Directeur du *Broad Institute*, et étoile de première grandeur dans l'univers de la génétique moléculaire, où il retrace en détail l'histoire de l'invention de CRISPR-Cas9, mais d'une façon biaisée avantageant son poulain. Il y a là un conflit d'intérêt non mentionné dans l'article, et cette infraction à la déontologie des publications a valu à son auteur une réprobation quasi-générale^{38,39}. Au-delà des dollars, il y a naturellement un problème de prestige concernant les futurs lauréats du Prix Nobel.

• Les risques de dissémination

Il s'agit des risques inhérents aux expériences sur l'animal visant à éradiquer par le mécanisme du *gene drive* ([22] et note 25) une espèce jugée nuisible en relâchant dans la nature des spécimens « édités ». Il y a là un risque de bouleversement des écosystèmes, ce qui entraîne une crispation bien compréhensible de la part des scientifiques responsables. Ceux-ci proposent d'approfondir la réflexion et d'édicter des règles strictes d'encadrement^{40,41}.

• Le défi éthique de l'édition du génome germlinal humain

Chez l'animal, l'édition thérapeutique *in vivo* a été expérimentée avec succès dans le génome somatique

Figure 1

Les deux héroïnes (E. Charpentier à gauche ; J. Doudna à droite) de CRISPR-Cas9 lors de la remise du Prix 2016 L'Oréal-Unesco pour les Femmes et la Science (24 mars 2016).
© Fondation L'Oréal

post-natal et aussi dans le génome germlinal (gamète, zygote, embryon) avec, dans ce cas, transmission à la descendance⁴².

En revanche, jusqu'à nouvel ordre, les expériences sur embryons humains sont prohibées dans la plupart des pays. C'est pourquoi les protocoles d'essais cliniques de thérapie génique conventionnelle par transfert de gène exigent d'exclure tout risque de contamination des lignées germinales. Aussi, lorsque la révolution CRISPR a fait son irruption, les seules éditions pratiquées sur du matériel humain l'ont été *ex vivo* sur le génome somatique de cellules en culture, et en particulier des cellules souches pluripotentes induites (en anglais *Induced pluripotent stem cells* ou *hiPSC*)^{43,44,45}.

Or, le tabou du génome germlinal humain a été transgressé en Chine au printemps 2015 avec une expérience d'édition du génome d'embryons humains non viables et non suivie de réimplantation utérine, la cible étant le gène de la bêta-globine⁴⁶. Les résultats ont été intéressants à deux titres : (1) en démontrant une efficacité limitée (production de mosaïque) et un

manque de spécificité (nombreux événements *off-target*) ; (2) en mettant au premier plan les problèmes éthiques inhérents aux manipulations du génome germinale humain, objectif d'ailleurs revendiqué par les auteurs. Sur ce dernier point, le succès a été total puisque la publication a soulevé une émotion considérable au niveau mondial⁴⁷. Dans une atmosphère rappelant l'ère des débuts de la génétique moléculaire des années 1970 avec le moratoire de Berg et la conférence d'Asilomar en 1975⁴⁸, la communauté scientifique a appelé à une réunion internationale pour réfléchir aux inquiétantes potentialités de l'édition du génome germinale et, semble-t-il, pour la bannir^{49, 50, 51, 52, 53}. Cette réunion a eu lieu à Washington en décembre 2015, rassemblant autour des inventeurs et utilisateurs de CRISPR des biologistes de tous bords - dont Paul Berg et David Baltimore déjà présents à Asilomar exactement 40 ans plus tôt - ainsi que des juristes, des éthiciens et des représentants de la société civile, y compris les usagers potentiels, en provenance de nombreux pays. On y a débattu des perspectives bénéfiques de l'édition génomique germinale et réfléchi aux aspects potentiellement néfastes de ce genre de manipulation en évoquant le spectre d'un retour à l'eugénisme devenu moléculaire, voire même d'une utilisation pour des objectifs transhumanistes⁵⁴. Dans sa résolution finale⁵⁵, l'assemblée a considéré que la seule justification de l'édition génomique germinale dans l'espèce humaine était d'ordre cognitif, avec pour objectif de déchiffrer les mécanismes moléculaires mis en jeu lors des premières divisions du zygote, et à condition de ne pas le réimplanter dans un utérus préparé. Toute édition germinale humaine à des fins reproductives était jugée « irresponsable » dans l'état actuel de nos connaissances. Bertrand Jordan a judicieusement résumé ce point de vue en intitulant son article « Feu orange pour la thérapie germinale ? »⁵⁶. En attendant que le sujet mûrisse, la communauté scientifique internationale était conviée à continuer sa réflexion en se réunissant périodiquement. La conséquence la plus importante de ce premier sommet a été de réveiller les consciences dans les pays les plus actifs dans le domaine de l'édition génomique (États-Unis, Chine, Europe) où le sujet a été sérieusement abordé par les instances professionnelles. En France, l'Académie de Médecine, après une réflexion approfondie avec audition de nombreux spécialistes, a adopté en avril 2016 un rapport très documenté sur la question [5] comportant des recommandations similaires à celles issues de la réunion de Washington. Il y est souligné en outre que si la législation française, avec notamment ses lois évolutives de Bioéthique, et la vigilance active du comité consultatif national d'éthique (CCNE) offrent déjà une bonne protection

contre le mésusage de l'édition génomique chez l'Homme, l'effort de réflexion ne doit pas se relâcher. Enfin, dans les tout derniers jours du mois d'avril 2016, un deuxième sommet international post-Washington s'est tenu à Paris, suivi d'une réunion de consensus⁵⁷.

Ce remue ménage n'a pas empêché la Chine d'aller de l'avant et de pratiquer une seconde expérience d'édition germinale dans des embryons humains non viables, ciblant cette fois le gène codant le récepteur CCR5 pour y introduire la mutation conférant une résistance au virus HIV^{58, 59}. Les résultats ont été décevants, prouvant que la technique était loin d'être maîtrisée, et les auteurs concluent à la nécessité de proscrire la pratique de l'édition génomique des embryons tant qu'elle ne serait pas fiable...

Figure 2
Janus est le dieu romain des commencements et des fins, des choix, du passage et des portes. Il a deux visages (*bifrons*), l'un tourné vers l'avenir, l'autre vers le passé. Le symbole est ici détourné pour représenter la dualité des réactions suscitées par CRISPR : éclat prométhéen des lendemains qui chantent/peurs cassandresques de lendemains incertains.
© Fubar Obfusco - Foto taken himself, upload to English wikipedia by Fubar Obfusco, Domaine public, <https://commons.wikimedia.org/w/index.php?curid=177247>

Quelques commentaires depuis Sirius⁶⁰

Face au mélange d'enthousiasme et de crispations suscitées par la technique CRISPR, on ne peut ni ne doit rester indifférent, car les enjeux sont importants. Le sujet est tellement mouvant, et le recul si faible qu'il paraît vain de tenter une synthèse et *a fortiori* d'anticiper. Voici cependant quelques réflexions que le sujet m'inspire en tant que médecin.

Les nucléases programmables de type CRISPR-Cas9 représentent un instrument de recherches fondamentales incomparable. Il est perfectionné tous les jours et appliqué à un nombre sans cesse croissant de domaines. C'est la baguette magique qui fera enfin parler le génome et l'épigénome humains, et

par voie de conséquence le « pathome » et tous les autres « omes » y compris le « pharmacome ».

- Concernant l'édition somatique, dont personne ne conteste la légitimité, il faut éviter de retomber dans les errements de la thérapie génique conventionnelle par transfert de gène [14] où l'on a commencé à crier victoire avant d'avoir mesuré et surmonté les difficultés de l'entreprise. À la célèbre injonction de Stuart Orkin et Arno Motulski⁶¹ réclamant il y a déjà plus de 20 ans *less hype, more biology*, je me permets d'ajouter aujourd'hui à propos de CRISPR « *and more common sense* ». En effet, le fait de remplacer le transfert de gène par l'édition du génome ne contourne en aucune façon les verrous que représentent la vectorisation et l'adressage dans un maximum de noyaux et dans les tissus ou organes adéquats⁶². C'est pour cela que, dans le domaine de la myologie, les publications rapportant une édition efficace du gène de la dystrophine (DMD) [27-30] ne sont que des POC expérimentales et non des avancées thérapeutiques immédiatement applicables en clinique⁶³. Les avantages de l'édition génomique que sont la correction *in situ* (donc régulée) et définitive sont contrebalancés par la nécessité absolue de réussir sans bavure (aucun impact *off-target*) et le risque que comporte l'abandon du bistouri (l'endonuclease Cas9) dans le champ opératoire⁶⁴. Or, les méthodes d'édition génomique en vigueur, même très améliorées, sont encore loin d'offrir les garanties de sécurité nécessaires^{65,66}. Le bon sens nous amène à peser soigneusement les maladies qui pourraient être candidates à une édition thérapeutique. *A priori*, les situations les plus favorables devraient être les suivantes : (1) *édition suppressive* : élimination de séquences rétrovirales intégrées et pathogènes (VIH) ou d'allèles avec gain de fonction dominants (maladies à expansion de triplets comme la chorée de Huntington) ; élimination de fusions géniques aboutissant à un gain de fonction oncogénique (nombreux types de leucémies, certains cancers) ; (2) *édition restauratrice* : les maladies génétiques affectant une protéine catalytique (enzymes, facteurs de coagulation) où le seuil thérapeutique est très bas [26]. En matière de myologie, rappelons que les structuropathies, comme les dystrophinopathies, ont au contraire un seuil thérapeutique élevé. En revanche, la dystrophie facio-scapulo-humérale (FSH), où l'anomalie micro-satellitaire entraîne par voie épigénétique une dépression ectopique de *DUX4*, paraît être un excellent choix par ciblage de Cas9 vers son promoteur et l'exon 1⁶⁷ ; (3) édition topique (rétine).

- Concernant l'édition germinale, nous retompons dans le dilemme *Cassandra versus*

Prométhée déjà évoqué dans un précédent *Clin d'œil*⁶⁸. Ici aussi, le problème est avant tout d'ordre éthique puisque le savoir-faire progresse à une allure vertigineuse. Or, le vertige n'est pas propice à une réflexion éthique sereine. En permettant de façonner à sa guise n'importe quel génome, la méthode CRISPR-Cas9 apparaît comme une technologie de rupture⁶⁹. Si on songe qu'elle confère à l'Homme une maîtrise jusqu'alors réservée au tandem hasard/nécessité⁷⁰ ou pour les croyants monothéistes au seul Créateur⁷¹, elle apparaît même comme une technologie de transgression capable de nous affranchir de la fatalité darwino-mendélienne. Je ne doute pas que le sujet sera proposé au prochain bac philo (voir à la fin de ce *Clin d'œil*), mais, en attendant, on aimerait se faire une philosophie en terme de perspectives thérapeutiques. Que dire aux malades et à leurs familles sachant que les Associations se sont montrées plutôt réceptives aux manipulations du génome embryonnaire⁷² ?

• Entre le cauchemar de Jennifer et le rêve de George

Une maîtrise de la maîtrise est-elle envisageable ? D'abord est-elle souhaitable ? Pour la plupart des scientifiques, à commencer par les inventrices de la méthode, la réponse est positive. C'est le point de vue que l'on peut résumer par la formule « *Le cauchemar de Jennifer* »⁷³ qui récapitule les appréhensions justifiant un encadrement. Pour d'autres, dont le chef de file est George Church^{74,75}, il faut avant tout aller de l'avant, ne pas freiner le progrès, ne pas boudier son plaisir heuristique et ses pulsions entrepreneuriales⁷⁶. Dans ce que j'intitule « *Le rêve de George* », on promet ainsi d'utiliser CRISPR pour éditer les embryons humains en leur conférant une dizaine d'allèles protecteurs de pathologies courantes [74]. Entre ces deux points de vue contrastés, ici illustrés par une représentation de *Janus bifrons*, il devrait y avoir place pour une **édition génomique bien tempérée**⁷⁷. Mais plusieurs facteurs s'y opposent : loi du marché, où pèsera la pression combinée des éditeurs cotés en Bourse et des commanditaires demandeurs légitimes (les Associations de malades) ou moins légitimes (parents en quête de bébé parfait ou sur commande) ; incapacité des nations à adopter une charte universelle ; impuissance des Comités d'éthique pour lesquels il est plus facile d'interdire les pratiques irréalisables, mais qui ensuite finissent tôt ou tard par céder. De toute façon, comme le fait justement remarquer Jennifer Doudna⁷⁸, il est impossible d'empêcher une manipulation dès lors que son faible coût et sa simplicité la mettent à la portée de n'importe qui. D'où le fantasme frankensteinien d'éditeurs clandestins à but inventif, lucratif,

récréatif⁷⁹, voire criminel. En attendant, il ne serait pas étonnant que des aventuriers de la science sans conscience franchissent le pas, quelque part dans le *global village*, en effectuant la réimplantation d'un embryon humain édité... « juste pour voir ». Ce serait le dernier degré de la réification de l'individu puisque les exemplaires défectueux seraient voués au pilon comme il est d'usage chez les éditeurs.

• Moralité en forme de sujet pour le bac philo

Commentez les citations suivantes et expliquez en quoi elles se rapportent au débat actuel portant sur CRISPR.

1. En 1838, François Arago, astronome, physicien et homme politique français, fait part de ses craintes sur la naissance du chemin de fer.

« Les malheureux voyageurs sont transportés brusquement de la température extérieure dans l'atmosphère glaciale des tunnels... J'affirme sans hésiter que dans ce passage subit les personnes sujettes à la transpiration seront incommodées, qu'elles

gagneront des fluxions de poitrine, des pleurésies... Il est possible qu'une machine locomotive éclate... ; là, vous auriez à craindre les coups directs et les coups réfléchis ; là, vous auriez à craindre que la voûte ne s'écroulât sur vos têtes ! ».

Rapport d'Arago présenté au nom de la commission des chemins de fer lors de la première discussion générale à la Chambre, 1838.

2. « *There may come a time when, ethically, we can't not do this.* » (un jour viendra peut-être où on ne pourra pas ne pas le faire), propos tenus lors du premier colloque sur les incidences éthiques de CRISPR organisé par J. Doudna en 2015 à Napa Valley [73].

The Emeritus Dinosaur's viewpoint

Elation and crispations about CRISPR: when truth is stranger than science-fiction

LIENS D'INTÉRÊT

L'auteur regrette de n'avoir aucun lien d'intérêt concernant les données publiées dans cet article.

• Quelques sites web dédiés à CRISPR-Cas9 où l'on trouvera d'excellentes revues générales

Nature genome editing outlook : <http://www.nature.com/nature/outlook/genome-editing/>

Nature special : <http://www.nature.com/news/crispr-1.17547#/Special-sponsored-supplement>

Science : <http://www.sciencemag.org/tags/crispr>

Cell : <http://onlinedigeditions.com/publication/frame.php?i=223322&p=&pn=&ver=flex>

The Scientist : <http://www.the-scientist.com/articles.list/categoryNo/2625/category/The-Scientist/tagNo/6252/tag/CRISPR-Cas/>

NOTES

1. Jinek M, Chylinski K, Fonfara I, Hauer M, Doudna JA, Charpentier E. A programmable dual-RNA-guided DNA endonuclease in adaptive bacterial immunity. *Science* 2012 ; 337 : 816-21.

2. Voir le vivant historique de J. Kahn : The CRISPR quandary. *New York Times* 15 novembre 2015. http://www.nytimes.com/2015/11/15/magazine/the-crispr-quandary.html?_r=0.

3. Charpentier E. CRISPR-Cas9 : how research on a bacterial RNA-guided mechanism opened new perspectives in biotechnology and biomedicine. *EMBO Mol Med* 2015 ; 7 : 363-5.

4. Marraffini LA. CRISPR-Cas immunity in prokaryotes. *Nature* 2015 ; 526 : 55-61.

5. Jouannet P. Rapport à l'Académie de Médecine. Modifications du génome des cellules germinales et de l'embryon humains (avril 2016).

<http://www.academie-medecine.fr/articles-du-bulletin/publication/?idpublication=100523>

6. Dictionnaire Historique de la Langue Française. Paris : Éditions Dictionnaires Le Robert, 1992.

7. Cong L, Ran FA, Cox D, Lin S, Barretto R, Habib N, Hsu PD, Wu X, Jiang W, Marraffini LA, Zhang F. Multiplex genome engineering using CRISPR/Cas systems. *Science* 2013 ; 339 : 819-23.

8. Mali P, Yang L, Esvelt KM, Aach J, Guell M, DiCarlo JE, Norville JE, Church GM. RNA-guided human genome engineering via Cas9. *Science* 2013 ; 339 : 823-6.

9. Hsu PD, Lander ES, Zhang F. Development and applications of CRISPR-Cas9 for genome engineering. *Cell* 2014 ; 157 : 1262-78.

10. Dans ces systèmes, la spécificité est fondée sur des interactions directes de type protéine-ADN beaucoup plus difficiles à maîtriser.

11. Whitelaw CB, et al. Engineering large animal models of human disease. *J Pathol* 2016 ; 238 : 247-56.

12. Nakamura K, Fujii W, Tsuboi M, Tanihata J, Teramoto N, Takeuchi S, Naito K, Yamanouchi K, Nishihara M. Generation of muscular dystrophy model rats with a CRISPR/Cas system. *Sci Rep* 2014 ; 4 : 5635.

13. Chen Y, Zheng Y, Kang Y, Yang W, Niu Y, Guo X, Tu Z, Si C, Wang H, Xing R, et al. Functional disruption of the dystrophin gene in rhesus monkey using CRISPR/Cas9. *Hum Mol Genet* 2015 ; 24 : 3764-74.

14. Kaplan JC. L'enfer du génothérapeute est pavé de POC. *Med Sci (Paris)* 2015 ; 31 (suppl 3 - Les Cahiers de Myologie) : 41-4.

15. Cox DB, et al. Therapeutic genome editing: prospects and challenges. *Nat Med* 2015 ; 21 : 121-31.

16. Prakash V, et al. Current progress in therapeutic gene editing for monogenic diseases. *Mol Ther* 2016 ; 24 : 465-74.

17. Savic N, et al. Genome-editing technologies for gene and cell therapy. *Mol Ther* 2016 ; 24 : 430-46.

18. White MK, Khalili K. CRISPR/Cas9 and cancer targets: future possibilities and present challenges. *Oncotarget* 2016 ; 7 : 12305-17.

19. Hu W, et al. RNA-directed gene editing specifically eradicates latent and prevents new HIV-1 infection. *Proc Natl Acad Sci USA* 2014 ; 111 : 11461-6.

20. Ramanan V, et al. CRISPR/Cas9 cleavage of viral DNA efficiently suppresses hepatitis B virus. *Sci Rep* 2015 ; 5 : 10833.

21. Kennedy EM, et al. Inactivation of the human papillomavirus E6 or E7 gene in cervical carcinoma cells by using a bacterial CRISPR/Cas RNA-guided endonuclease. *J Virol* 2014 ; 88 : 11965-72.

22. Gantz VM, et al. Highly efficient Cas9-mediated gene drive for population modification of the malaria vector mosquito *Anopheles stephensi*. *Proc Natl Acad Sci USA* 2015 ; 112 : E6736-43.

23. Maddalo D, et al. In vivo engineering of oncogenic chromosomal rearrangements with the CRISPR/Cas9 system. *Nature* 2014 ; 516 : 423-7.

24. Gantz VM, Bier E. Genome editing. The mutagenic chain reaction: a method for converting heterozygous to homozygous mutations. *Science* 2015 ; 348 : 442-4.
25. Gene drive : échappement génétique avec propagation non mendélienne rapide d'un variant génique dans une population entière, pouvant aboutir à son extinction en deux générations si le variant porte une mutation délétère.
26. Yin H, *et al.* Therapeutic genome editing by combined viral and non-viral delivery of CRISPR system components in vivo. *Nat Biotechnol* 2016 ; 34 : 328-33.
27. Xu L, *et al.* CRISPR-mediated genome editing restores dystrophin expression and function in mdx Mice. *Mol Ther* 2016 ; 24 : 564-9.
28. Long C, *et al.* Postnatal genome editing partially restores dystrophin expression in a mouse model of muscular dystrophy. *Science* 2016 ; 351 : 400-3.
29. Nelson CE, *et al.* In vivo genome editing improves muscle function in a mouse model of Duchenne muscular dystrophy. *Science* 2016 ; 351 : 403-7.
30. Tabebordbar M, *et al.* In vivo gene editing in dystrophic mouse muscle and muscle stem cells. *Science* 2016 ; 351 : 407-11.
31. Kemaladewi DU, Cohn RD. Exon snipping in Duchenne muscular dystrophy. *Trends Mol Med* 2016 ; 22 : 187-9.
32. Kaplan JC. DMD et saut d'exon thérapeutique : tout ce qu'il faut savoir en deux leçons. *Cahiers de Myologie* 2011 (octobre) ; 46-47.
33. Ce qui règle le problème de l'immunisation contre les protéines du vecteur viral, inévitable après injections itératives.
34. Voir la remarquable synthèse de M. Specter : The gene hackers The New Yorker. *Annals of Science* 16 novembre 2015, consultable sur http://www.moseslab.csb.utoronto.ca/alan/Specter_New_Yorker_2015.pdf
35. Begley S (2016). Controversial CRISPR history sets off an online firestorm. <https://www.statnews.com/2016/01/19/crispr-history-firestorm/>
36. Dessibourg O. Guerre des brevets pour la « chirurgie du gène ». *Le Temps* 22/02/16. <http://www.letemps.ch/sciences/2016/02/22/guerre-brevets-chirurgie-gene>
37. Lander ES. The heroes of CRISPR. *Cell* 2016 ; 164 : 18-28.
38. Hall J. The embarrassing, destructive fight over biotech's big breakthrough. *Scientific American* 2016 (4 février).
39. Begley S. 2016. Controversial CRISPR history sets off an online firestorm. Site internet statnews. <https://www.statnews.com/2016/01/19/crispr-history-firestorm/>
40. Oye KA, *et al.* Regulating gene drives. *Science* 2014 ; 345 : 626-8.
41. Esvelt KM (2016). Strategies for responsible gene editing. <https://www.project-syndicate.org/commentary/crispr-gene-drive-editing-rules-by-kevin-m-esvelt-2016-01>
42. Wu Y, *et al.* Correction of a genetic disease by CRISPR-Cas9-mediated gene editing in mouse spermatogonial stem cells. *Cell Res* 2015 ; 25 : 67-79.
43. Maury Y, *et al.* Les cellules souches pluripotentes humaines : un outil-clé pour décrypter les mécanismes physiopathologiques. *Med Sci (Paris)* 2011 ; 27 : 443-6.
44. Li HL, *et al.* Precise correction of the dystrophin gene in duchenne muscular dystrophy patient induced pluripotent stem cells by TALEN and CRISPR-Cas9. *Stem Cell Rep* 2015 ; 4 : 143-54.
45. Xue H, *et al.* Genetic modification in human pluripotent stem cells by homologous recombination and CRISPR/Cas9 system. *Meth Mol Biol* 2016 ; 1307 : 173-90.
46. Liang P, *et al.* CRISPR/Cas9-mediated gene editing in human triploid zygotes. *Protein Cell* 2015 ; 6 : 363-72.
47. Cyranoski D, Reardon S. Embryo editing sparks epic debate. *Nature* 2015 ; 520 : 593-4.
48. Berg P. Meetings that changed the world. Asilomar 1975: DNA modification secured. *Nature* 2008 ; 455 : 290-1.
49. Lanphier E, *et al.* Don't edit the human germ line. *Nature* 2015 ; 519 : 410-1.
50. Ledford H. CRISPR, the disruptor. *Nature* 2015 ; 522 : 20-4.
51. Doudna J. Embryo editing needs scrutiny. *Nature* 2015 ; 528 : S6.
52. Baltimore D, *et al.* A prudent path forward for genomic engineering and germline gene modification. *Science* 2015 ; 348 : 36-8.
53. Caplan AL, *et al.* No time to waste: the ethical challenges created by CRISPR. *EMBO Rep* 2015 ; 16 : 1421-6.
54. Travis J. Genetic engineering. Germline editing dominates DNA summit. *Science* 2015 ; 350 : 1299-300.
55. The National Academies of Sciences. Engineering medicine on human gene editing: international summit statement. <http://www8.nationalacademies.org/onpinews/newsitem.aspx?RecordID=12032015a>
56. Jordan B. Sommet de Washington : feu orange pour la thérapie germinale ? *Med Sci (Paris)* 2016 ; 32 : 217-20.
57. <https://www.ipsell.com/2016/04/meeting-summary-of-paris-human-gene-editing-workshop/>
58. Kang X, *et al.* 2016. Introducing precise genetic modifications into human 3PN embryos by CRISPR/Cas-mediated genome editing. *J Assist Reprod Genet.* 10.1007/s10815-016-0710-8
59. Callaway E. Second Chinese team reports gene editing in human embryos. *Nat News* 2016 ; 532 : 289-90.
60. <http://www.linternaute.com/expression/langue-francaise/19373/voir-les-choses-du-point-de-vue-de-sirius/>
61. Orkin SH, Motulsky AG. Report and recommendations of the panel to assess the NIH investment in research on gene therapy. <http://www.nih.gov/news/panelrep.html>. 7 décembre 1995.
62. Sauf les rares exceptions de type SCID décrites dans [11].
63. Hawkes N. Cautious welcome for gene editing of Duchenne muscular dystrophy in animal model. *BMJ* 2016 ; 351 : h7033.
64. Cet obstacle pourrait être levé par des astuces permettant l'inactivation du bistouri après usage.
65. Peng R, *et al.* Potential pitfalls of CRISPR/Cas9-mediated genome editing. *FEBS J* 2016 ; 283 : 1218-31.
66. Kaiser J. The gene editor CRISPR won't fully fix sick people anytime soon. Here's why. *Science* 2016. Doi : 10.1126/science.aaf568. <http://www.sciencemag.org/news/2016/05/gene-editor-crispr-won-t-fully-fix-sick-people-anytime-soon-here-s-why>
67. Himeda CL, *et al.* 2016. CRISPR/dCas9-mediated transcriptional inhibition ameliorates the epigenetic dysregulation at D4Z4 and represses DUX4-fl in FSH muscular dystrophy. *Mol Ther* 24 : 527-535.
68. Kaplan JC. Le génome low cost : entre Cassandra et Prométhée. *Clin d'œil. Cahiers de Myologie* 2010 ; n° 10 : 43-5.
69. La formule est de Hervé Chneiweiss, Président du Comité d'Éthique de l'Inserm.
70. https://fr.wikipedia.org/wiki/Le_Hasard_et_la_N%C3%A9cessit%C3%A9
71. https://fr.wikipedia.org/wiki/Livre_de_la_Gen%C3%A8se
72. Regalado A. Patients favor changing the genes of the next generation with CRISPR. *MIT Technology Review* 2015 ; december 2, 2015. (<http://www.technologyreview.com/biomedicine/>).
73. Jennifer Doudna a relaté ses angoisses d'apprentie-sorcière dans Doudna J. Genome-editing revolution: my whirlwind year with CRISPR. *Nature* 2015 ; 528 : 469-71.
74. Church G (2015). A conversation with George Church on genomics and germline human genetic modification. <https://www.ipsell.com/2015/03/georgechurchinterview/>
75. Church G. Encourage the innovators. *Nature* 2015 ; 528 : S7.
76. George Church est non seulement un savant incontestable mais aussi un businessman avisé dans le domaine de la génomique, voire de la génomancie.
77. Voir l'analyse très pertinente donnée par le spécialiste de bioéthique Hank Greeley dans son compte rendu de la première réunion organisée sur le sujet en janvier 2015. Greeley HT. Of science, CRISPR-Cas9, and Asilomar, April 4, 2015. <https://law.stanford.edu/2015/04/04/of-science-crispr-cas9-and-asilomar/#comments>
78. Doudna J. Embryo editing needs scrutiny. *Nature* 2015 ; 528 : S6.
79. Allusion aux micro-cochons fabriqués en Chine comme animaux d'agrément. Cyranoski D. Gene-edited "micropigs" to be sold as pets at Chinese institute. *Nature* 2015 ; 526 : 18.