

Modifications ciblées dans le génome des micro-organismes

Atelier Génotoul volet 4
Toulouse 29 septembre 2016

Pour toute utilisation du contenu de cette présentation, veuillez citer l'auteur, son organisme d'appartenance, le volet 3 des ateliers « Modifications ciblées des génomes et enjeux éthiques » de la Plateforme « génétique et société » de Toulouse, le titre du document ainsi que la date. Merci



Rappels

Méthodes antérieures à CRISPR-Cas9

- Mutagenèse classique aléatoire (introduction AND étranger+ pas précis)
- Mutagenèse par oligonucléotide (ODM) qui ouvre double hélice pour s'apparier avec séquence et répare) évite addition AND étranger
- Mutagenèse par nucléase (1992 Bernard Dujon (Pasteur) méganucléase capable reconnaître séquence 18 nucléotides =>coupe à endroit précis et provoque autoréparation de ADN
- ✓ Zinc Finger Nucleases (ZFNs): US\$ 5000
- ✓ Transcriptionlike Effector Nucleases (TALENs)

La révolution CRISPR/Cas9

- CRISPR/Cas9 modif par nucléase (CAS9).
- Introduction d'un ARN guide qui pilote la nucléase pour couper à un endroit précis
- ARN facile à synthétiser à moindre coût (\$30 à 70).
- fonctionne chez tous procariotes et eucaryotes (plantes champignons, animaux)

Les possibles

- Gene editing : modification ponctuelle intentionnelle et ciblée par substitution, ou délétion ou addition de nucléotide ayant pour conséquence d'altérer sa fonction (codage d'une protéine)
- Conjugaison gene synthesis (0.23\$- et gene editing => possible créer nouvelles espèces
- Gene drive : modification ponctuelle sur une population sauvage transmise à chaque génération (vs lois de Mendel)=>éradication rapide d'une espèce

Une méthode propre aux bactéries

- Cas 9 outil de détection ADN étranger découvert dans *Streptococcus pyogenes*. fonction immunité adaptative (lutte contre bactériophages ou virus)
- Applications aux bactéries: genetically recoded organisms (GROs) recodage du genome pour fabriquer bactéries avec fonctions désirées (cf G. Church *Science* Sept 2016): engineered bacterium with a 57-codon genome 148,000 total changes.

Risques?

- Risque de modification hors cible (off targett) réduit mais plausible
- Applications sans comprendre (pas limité aux organismes modèles ou grande consommation)
- Mutation indiscernable des mutations spontanées (problème de traçabilité et de réglementation)
- Perturbation des écosystèmes

Évaluation coûts/bénéfices

- Anticiper impacts sur société, législation, l'environnement
- Balancer les risques de faire et risques de ne rien faire (ex. Éliminer bactéries nuisibles, favoriser bonnes bactéries)

Des croyances dans la science?

Image convenue

- science chasse croyances par usage raisonnement+ évidences factuelles
- Ethos: scepticisme organisé (tribunal des pairs)
- Bachelard ‘:l opinion pense mal elle ne pense pas....’

Image plus réaliste

- . Principes non discutés
- Pré-conceptions et visions métaphysiques
- l’opinion => controverses scientifiques
- Adhésion au paradigme dominant (Kuhn) gra^ce à formation scientifique

Visions & Valeurs

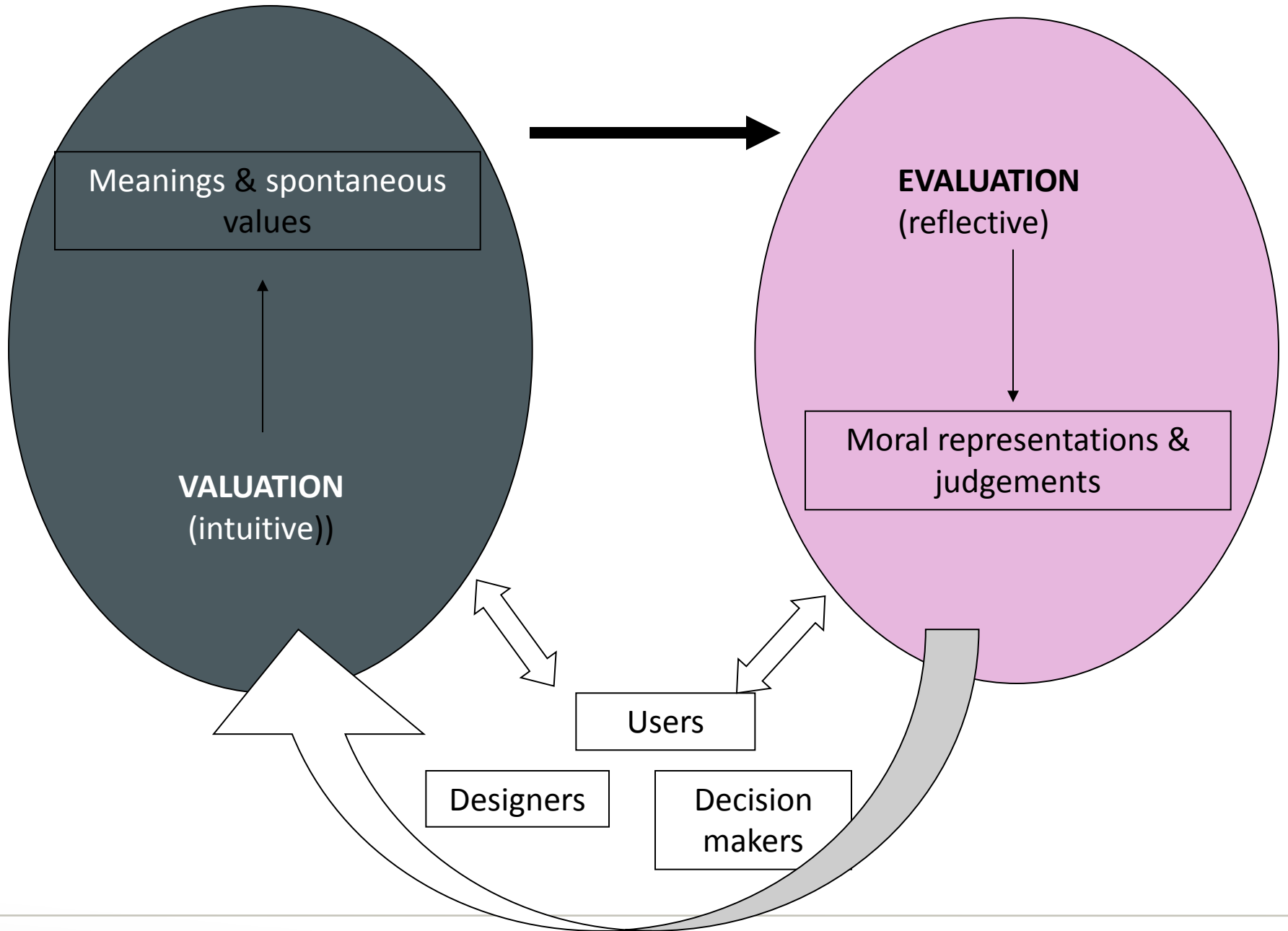
Pas de neutralité des techniques : indépendamment des applications (vertueuses ou criminelles), elles véhiculent

- Des visions
- Des valeurs et aspirations
- Des normes

Éthique pragmatique

John Dewey : 2 étapes

- **Valuation** : expliciter les valeurs implicites
- **Critical evaluation**: les évaluer collectivement dans une délibération publique



Rôles des métaphores

- Pas simples effets rhétoriques pour communication scientifique
- Rôle heuristique: inspirent agendas de recherche, façonnent pratiques
- Pas de fonction représentative, pas valeur de vérité (correspondance ou approximation de la réalité)
- Fonction pragmatique guides d'action, encouragement

Métaphores à l'oeuvre

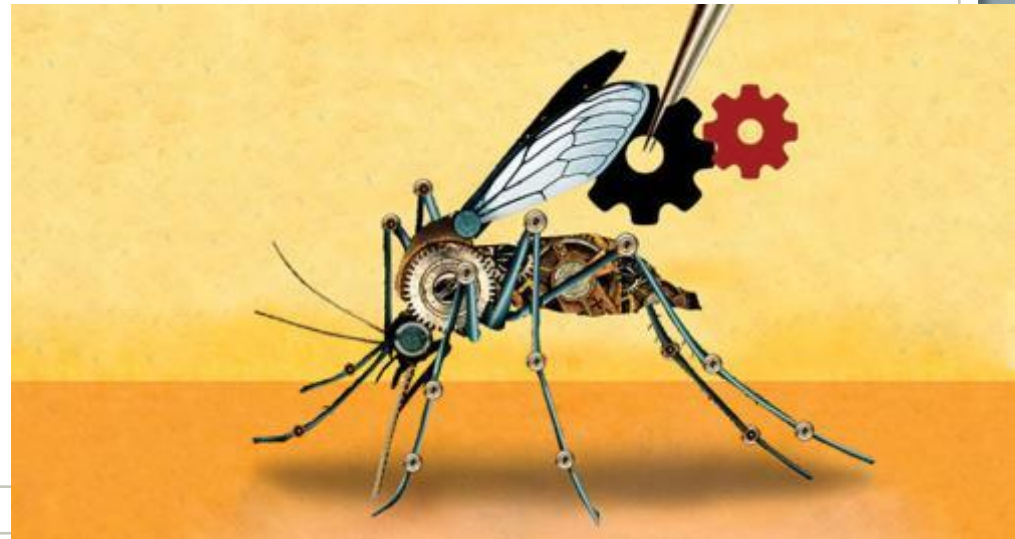
Ciseaux moléculaires



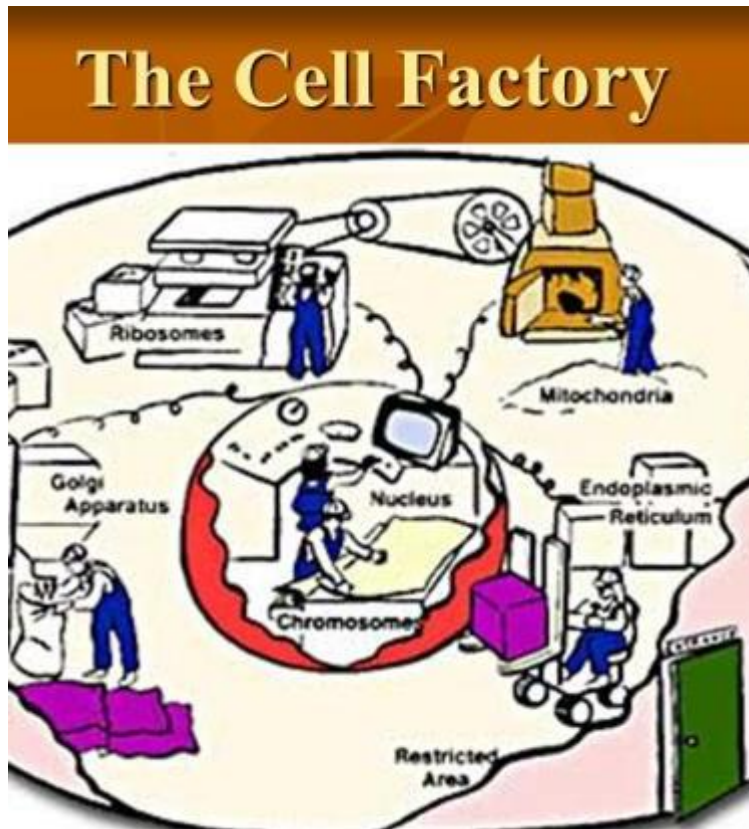
Édition de gènes (code, texte)

Gene drive

(piloter l'hérédité)

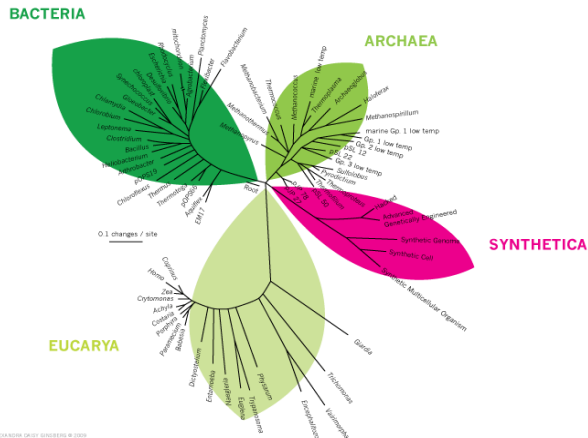


Machinerie cellulaire



- AND, ARN, nucléases= outils comparables à nos outils
- Chaque pièce a une fonction et une seule
- Interchangeabilité des pièces

Lire, écrire, éditer



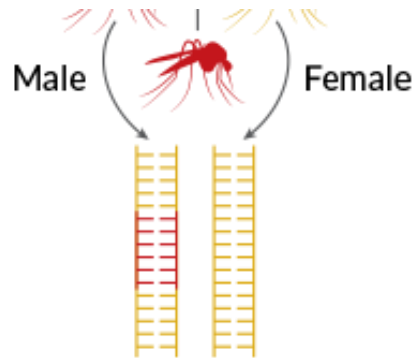
- « The genetic code is 3.6 billion years old. It's time for a rewrite » (Knight 2007).

Rewriting the code of Life Sciences CRE

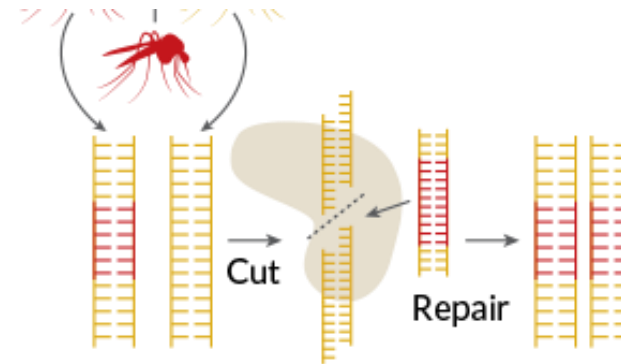
2014 Corporate Real Estate
Trends for the Life Sciences Sector



Pilotage de hérédité



Altered gene without gene drive: One copy inherited from one parent. 50 percent chance of passing it on.



Altered gene as gene drive: One copy converts gene inherited from other parent. More than 50 percent chance of passing it on.



Ambivalence de ces métaphores

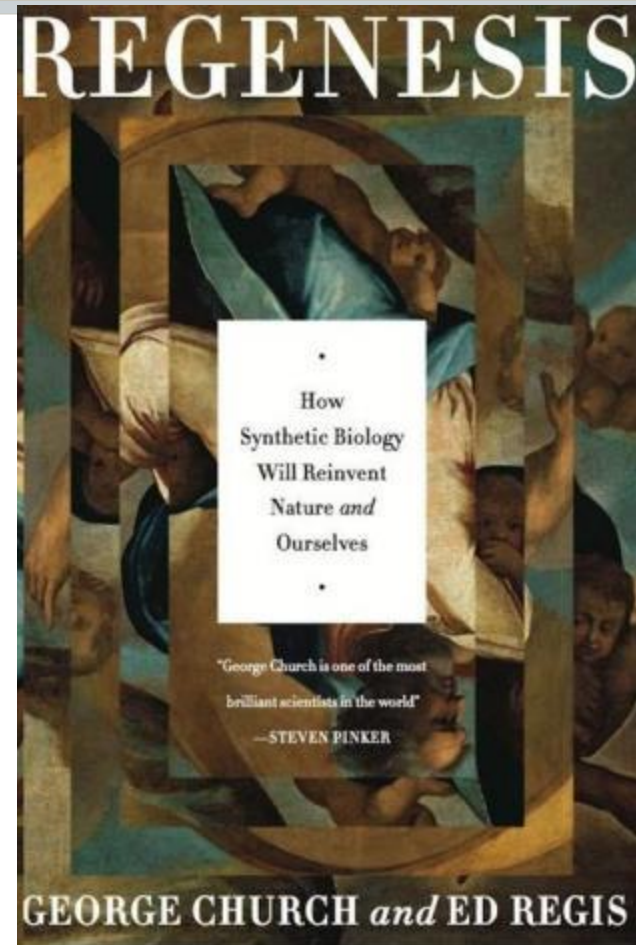
Réalisme : puissants outils de séquençage haut débit+
synthèse et CRISPR/Cas9

Surréalisme: (OULIPO) fabriquer des textes par
combinaisons de lettres

Irréalisme : Vision peu conforme aux théories en
vigueur: pas indépendance des gènes, multiples
contraintes d'expression, épigénétique...

Valuations implicites

- Control
- Precision
- Easyness and playfulness
- Cheapness
- Performance
- Design



Évaluations éthiques

- Playing God?
- Conséquences non voulues
- Comment maîtriser la maîtrise de hérédité
- Quel monde pour générations futures?

Statut des microbes

valuations

- Outils de laboratoire
- Machines à reprogrammer
- Usines à médicaments
- Ennemis à dégager

évaluations

Vision trop anthropocentrique

- Êtres vivants à respecter (biocentrisme)
- 70% de biomasse et plus de biodiversité que dans reste du monde
- Microbes partenaires, symbiotes dans tous les domaines du vivant
- Microbes présents sur terre avant et après les humains

Conclusion

Conditions pour une démocratie technique:

- Éthique par delà analyse des risques et de évaluation des coûts/bénéfice
- Questionner les valeurs et les visions
- En débattre ouvertement
- Établir hiérarchie des valeurs et des priorités