

STOP OGM

Alliance suisse
pour une agriculture
sans génie génétique

Document d'analyse
Mars 2017

Nouvelle technique de modification génétique Edition génomique avec CRISPR/Cas9



Édition génomique au moyen du système CRISPR/Cas9

Avec CRISPR/Cas9, la recherche dispose depuis 2012 d'un nouvel outil qui devrait révolutionner le génie génétique, étant donné qu'il permet de modifier plus rapidement, plus simplement, avec plus de précision et à moindres coûts le patrimoine génétique d'êtres vivants que ne le faisaient les méthodes appliquées jusqu'ici. Ce nouvel outil fait exploser les applications du génie génétique dans la sélection végétale et animale, et il marque le retour en force de la xénotransplantation et de la thérapie génique. Il rend possibles les traitements par intervention sur la lignée germinale chez l'être humain ainsi que la manipulation du génome de populations d'animaux et de plantes sauvages. Les acteurs de la recherche et de l'industrie affirment pouvoir réaliser au moyen du CRISPR/Cas9 les promesses non tenues par les méthodes classiques du génie génétique, mais ils tentent aussi de déplacer les garde-fous éthiques, d'assouplir la définition du génie génétique et de modeler le cadre légal du nouvel outil dans leurs intérêts. CRISPR/Cas9 pose ainsi à la société de nouveaux défis : les risques ne sont pas connus, le cadre légal est flou ou demande des adaptations, il faut trouver des garde-fous éthiques et débattre de la portée de la notion de génie génétique.

Bases

Qu'est-ce que le CRISPR/Cas9?

CRISPR/Cas9 est un outil de biologie moléculaire développé en 2012. Il est issu à l'origine de bactéries et se compose de deux réactifs : une protéine appelée Cas9 et un acide ribonucléique-guide, l'ARNg. Lorsqu'on introduit la Cas9 et l'ARNg dans des cellules, ils y forment une protéine ribonucléique qui s'amarre au génome de la cellule (fig. 1). Les chercheurs peuvent programmer l'ARNg-guide de manière à cibler l'endroit où la ribonucléoprotéine se lie à l'ADN. Ils peuvent déterminer la séquence des éléments d'un segment de l'ARNg de manière à ce qu'elle soit identique à l'endroit de l'ADN où la protéine Cas9 doit s'amarrer.

Ce qui se passe après que la ribonucléoprotéine se soit amarrée à l'ADN dépend de la fonction de la protéine Cas9. Sous sa forme d'origine, celle-ci agit comme une paire de ciseaux génétiques. Autrement dit, elle coupe le brin d'ADN au point d'amarrage. Les chercheurs utilisent cette fonction pour éditer le génome (voir plus loin), mais elle peut être transformée de manière à permettre aussi de modifier l'épigénome de manière spécifique¹, de couper l'ARN ou de contrôler l'activité de certains gènes.

Qu'est-ce l'édition génomique avec CRISPR/Cas9?

L'édition génomique utilisant le système CRISPR/Cas9 est une technologie génétique permettant de désactiver, de modifier, d'éliminer ou d'ajouter de manière spécifique des gènes dans le génome d'êtres vivants (fig. 2). Elle fait appel aux ciseaux génétiques Cas9 et à un ou plusieurs ARN, et utilise les systèmes de réparation intracellulaires de l'ADN. La Cas9 et l'ARNg sont introduits dans des cellules pour couper l'ADN du génome à un ou plusieurs endroits prédéterminés. La cellule répare l'ADN là où les brins sont coupés. Le chercheur peut contrôler et donc influencer le système en décidant si des gènes doivent être désactivés, modifiés ou éliminés ou encore si de nouveaux gènes doivent être ajoutés (fig. 2 ; tableau 1). Actuellement, un litige fait rage autour du brevetage du système CRISPR/Cas9 (de.wikipedia.org/wiki/CRISPR/Cas-Methode).

Comment introduit-on la Cas9 et l'ARNg dans des cellules vivantes?

Pour pouvoir modifier le génome d'êtres vivants au moyen du système CRISPR/Cas9, il faut introduire les deux réactifs Cas9 et ARNg dans leurs cellules, soit directement sous forme de ribonucléoprotéines, soit indirectement sous forme d'ADN ou d'ARN contenant l'information génétique nécessaire à la fabrication de Cas9 et d'ARNg (tableau 2, figure 3). Si les réactifs sont introduits au moyen d'ADN, on procède selon les méthodes du génie génétique classique. Autrement dit, dans certains cas, l'édition génomique avec le CRISPR/Cas9 n'est possible qu'en combinaison avec les méthodes du génie génétique²

classique.

L'édition génomique est-elle réalisable avec d'autres outils ?

L'édition génomique peut certes être réalisée aussi au moyen d'autres outils comme par exemple des nucléases TALE ou des nucléases à doigts de zinc, mais le système CRISPR/Cas9 s'est imposé en peu de temps dans la recherche fondamentale. Il y est devenu l'outil de choix étant donné qu'il est plus facile d'utilisation et qu'il permet d'éditer le génome plus rapidement et à moindres coûts en comparaison des autres techniques. Le système CRISPR/Cas9 simplifie nettement le multiplexing, qui consiste à modifier simultanément plusieurs sites du génome par une seule manipulation.

Il faut s'attendre à ce que le CRISPR/Cas9 devienne à long terme également l'outil de choix de la recherche appliquée. Cependant, quelques chercheurs et chercheuses / sociétés ont actuellement peur de l'utiliser pour le développement-produits vu le litige existant en matière de brevetage et le flou qui règne en l'occurrence au sujet des conditions de licence du système CRISPR/Cas9.

1. C'est-à-dire modifier le génome sans en altérer sa séquence ; on insère par exemple des groupements chimiques (méthyls) sur l'ADN, qui de ce fait n'est plus accessible à la machinerie cellulaire, ce qui inactive des gènes par exemple.

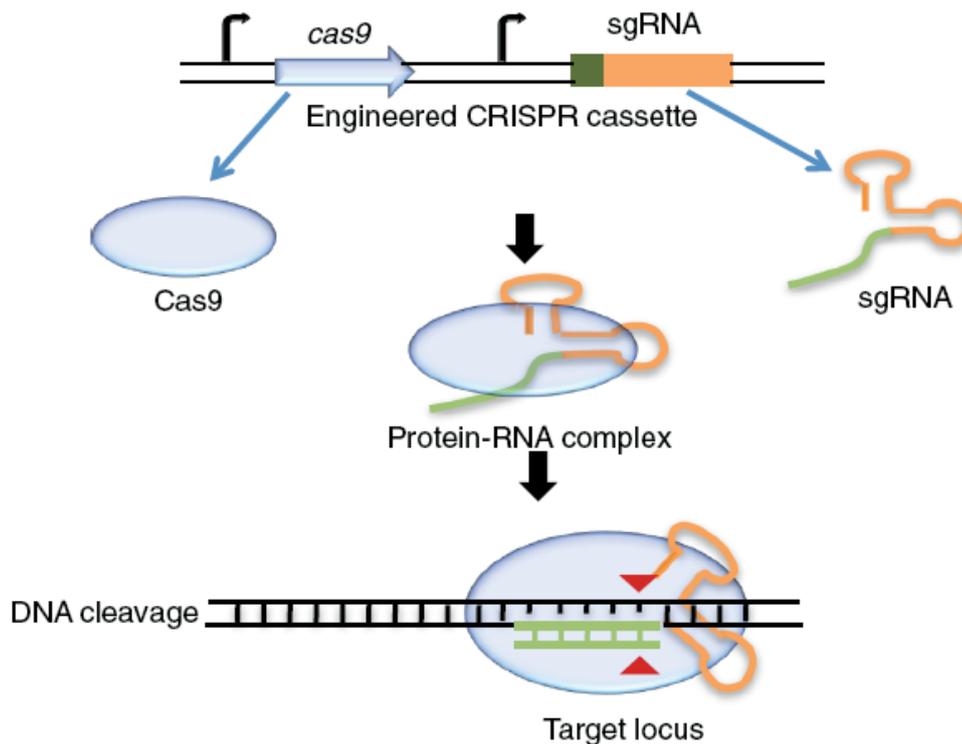


Figure 1:

Exemple d'une cassette génétique introduite dans le génome à modifier. La machinerie cellulaire va produire la protéine Cas9 (le ciseau moléculaire) et le guide ARN homologue à la séquence à couper sur l'ADN. Cas9 et le guide ARN s'assemble pour former un complexe. Le guide ARN reconnaît la séquence à couper sur l'ADN par homologie et Cas9 coupe.

Figure reprise de : CRISPR/Cas9: an advanced tool for editing plant genomes. Milan Kumar Samanta, Avishek Dey and Srimonta Gayen (2015). Transgenic Research : DOI 10.1007/s11248-016-9953-5

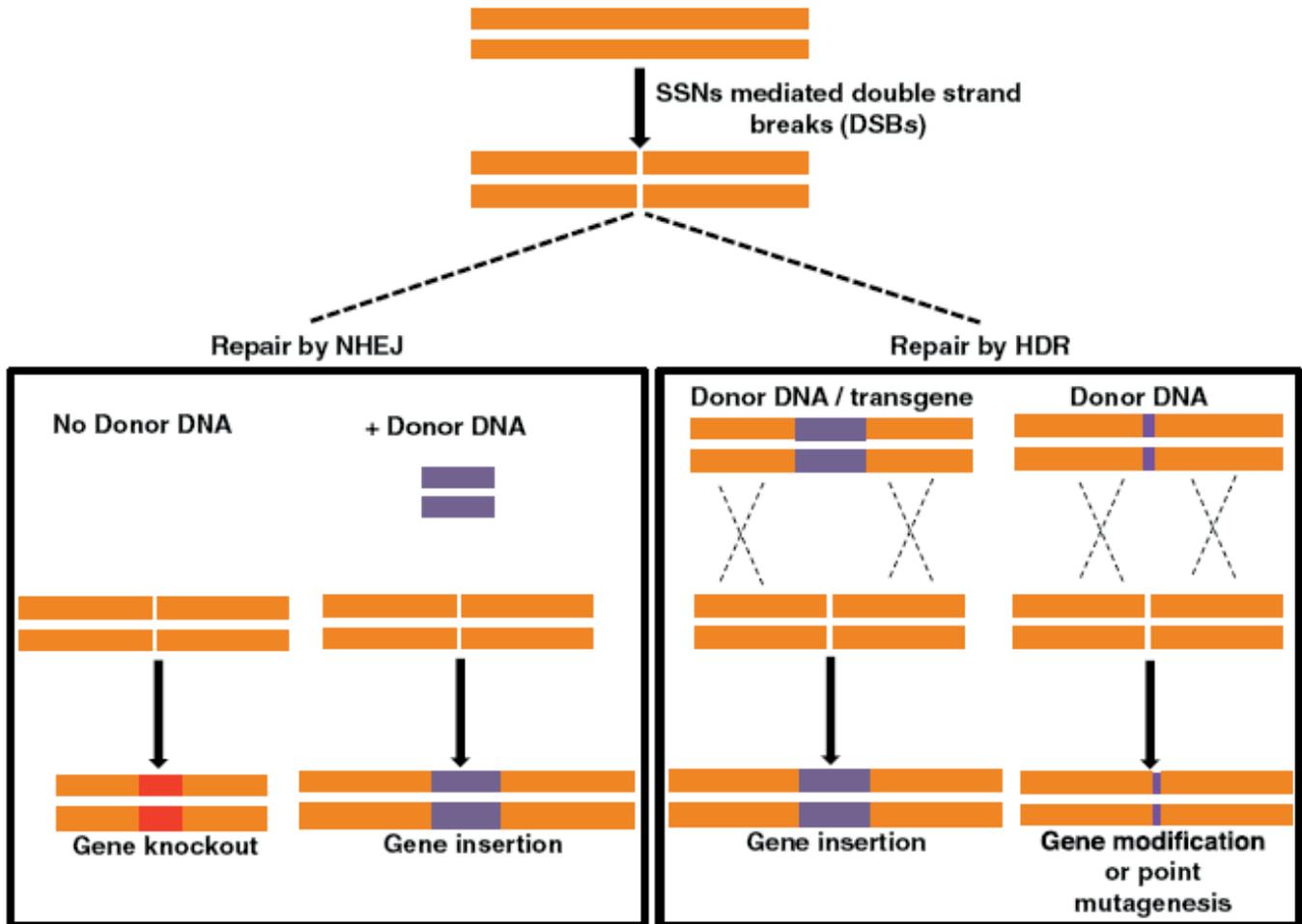


Figure 2. Le système CRISPR/Cas9 constitue une nucléase (un ciseau moléculaire) qui est séquence spécifique (sequence specific nuclease = SSN). Il permet de créer une coupure dans l'ADN afin de désactiver, de modifier ou d'ajouter des gènes de manière spécifique. Les coupures sont réparées par un système par deux systèmes propres à la cellule. L'ajout de gènes crée un OGM. Par contre, la désactivation (Gene knockout), la modification avec quelques nucléotides et l'élimination de gènes ne sont pas clairement réglementées.

Figure reprise de : CRISPR/Cas9: an advanced tool for editing plant genomes. Milan Kumar Samanta, Avishek Dey and Srimonta Gayen (2015). Transgenic Research : DOI 10.1007/s11248-016-9953-5

Tableau 1: Modifications du génome réalisables avec CRISPR/Cas9.

Type de modification du génome	Réactifs nécessaires	Description
Désactivation d'un gène	Cas9 + ARNg	On introduit ensemble dans des cellules les ciseaux génétiques Cas9 et un ARNg, où la Cas9 coupe le génome à un endroit prédéfini. La cellule répare la cassure en assemblant les deux bouts de brins, éliminant au passage quelques lettres de l'ADN ou ajoutant des lettres. Après la réparation, le gène ne fonctionne plus, il est désactivé.
Modification d'un gène	Cas9 + ARNg + matrice d'ADN	On introduit ensemble dans des cellules la Cas9, un ARNg et une matrice d'ADN. La matrice d'ADN est identique, mis à part les lettres de l'ADN à échanger, au site du génome où la Cas9 coupe l'ADN. La cellule répare la cassure en utilisant la matrice d'ADN comme modèle et en intégrant la séquence de lettres de celle-ci dans le génome.
Ajout d'un gène	Cas9 + ARNg + gène	On introduit ensemble dans des cellules la protéine Cas9, un ARNg et le gène qui doit être incorporé au génome. La Cas9 y coupe le génome à l'endroit prédéfini. La cellule répare l'ADN en insérant le gène au site de la cassure.
Élimination d'un gène	Cas9 + deux ARNg	On introduit ensemble dans des cellules la protéine Cas9 et deux différents ARNg. Les ARNg sont programmés de manière à ce que la Cas9 coupe un chromosome à deux endroits différents. La cellule répare les cassures de sorte que le morceau de chromosome entre les deux cassures se perd. Autrement dit, le gène ou les gènes qui se trouvent entre les cassures sont éliminés du génome.

Multiplexing	Cas9 + \geq deux ARNg	Le terme « multiplexing » désigne la procédure consistant à modifier le génome simultanément à plusieurs endroits. À cet effet, on introduit ensemble dans des cellules la protéine Cas9 et deux ou plus ARNg. Les ARNg sont programmés de manière à cibler les sites qui doivent être modifiés simultanément. Actuellement, le multiplexing réussit quand il s'agit de désactiver simultanément plusieurs gènes.
--------------	-------------------------	---

Tableau 2: Possibilités d'introduire les deux réactifs Cas9 et ARNg dans des cellules vivantes.

Méthode	Description
Introduction sous forme d'ADN	On fabrique à l'extérieur de la cellule un gène contenant la marche à suivre pour la formation de Cas9 et d'ARNg. Ce gène est introduit dans la cellule selon les méthodes classiques du génie génétique. Dans les cellules, le gène est transcrit en ARNm codant pour la Cas9 et l'ARNg. L'ARNm déclenche alors la synthèse de la protéine Cas9, qui fait son travail conjointement avec l'ARNg pour être ensuite détruite par la cellule. La manière dont l'association Cas9-ARNg-gène est éliminée de la cellule dépend de la méthode d'introduction du gène. Si l'on choisit une méthode où le gène est incorporé de manière stable dans le génome, il faut sélectionner les descendants qui n'ont pas hérité du gène. Si l'on choisit une méthode où le gène n'est pas incorporé de manière stable dans le génome, la cellule détruit le gène.
Introduction sous forme de mRNA	On fabrique à l'extérieur de la cellule un ARNm contenant la marche à suivre pour la formation de la Cas9 et d'ARNg. On introduit cet ARNm dans la cellule où il déclenche la production de la Cas9 et de l'ARNg. LaCas9 et l'ARNg font leur travail et sont ensuite détruits par la cellule comme le mRNA.
Introduction sous forme de ribonucléoprotéine	Avec une Cas9 et un ARNg, on fabrique à l'extérieur de la cellule une ribonucléoprotéine. On introduit celle-ci dans la cellule, où elle fait son travail pour être ensuite détruite par la cellule.

Quelles différences y a-t-il entre les méthodes classiques du génie génétique et le CRISPR/Cas9?

Les différences entre l'édition génomique ayant recours au système CRISPR/Cas9 et le génie génétique classique ne sont pas les mêmes pour tous les organismes. Mais voici grosso modo ce que l'on peut dire :

- >> Dans les méthodes du génie génétique classique, l'endroit où le génome est modifié est généralement aléatoire, alors qu'avec le CRISPR/Cas9, la modification a lieu à un endroit pré-défini du génome.
- >> Le CRISPR/Cas9 permet non seulement d'ajouter des gènes au génome, mais aussi de désactiver, de modifier ou d'éliminer de manière spécifique des gènes existants.
- >> Le CRISPR/Cas9 permet de modifier simultanément plusieurs sites spécifiques du génome (multiplexing).
- >> Chez des organismes dont le génome pouvait difficilement être modifié au moyen des méthodes classiques du génie génétique, le CRISPR/Cas9 devrait dorénavant simplifier les interventions sur le génome.
- >> Le CRISPR/Cas9 devrait également rendre possibles les interventions sur le génome d'espèces chez lesquelles les méthodes classiques du génie génétique ont échoué.

Catégories/types d'organismes CRISPR/Cas9

L'édition génomique au moyen du CRISPR/Cas9 peut produire divers types d'organismes, où l'on distingue les deux catégories suivantes:

Catégorie I: « produits avec CRISPR/Cas9 intégré »

Organismes qui portent dans leur génome des gènes avec le mode d'emploi pour la formation de Cas9 et d'ARNg. Les organismes de cette catégorie sont des OGM. Exemples :

- >> Les animaux et les plantes avec gene drive basé sur le système CRISPR/Cas9- (voir « Le cas spécial du forçage génétique »);

- >> Des plantes dont le génome contient le mode d'emploi du système CRISPR/Cas9 sont testées comme nouvelle stratégie de sélection pour rendre des variétés résistantes à des maladies virales.
- >> Des virus ou des vecteurs viraux dont le génome contient des gènes pour le CRISPR/Cas9 sont testés comme thérapie génique somatique ou développés aussi comme moyen de lutte contre les germes résistants aux antibiotiques.

Catégorie II: « produits sans CRISPR/Cas9 intégré »

Organismes où le système CRISPR/Cas9 est utilisé pendant le processus de production pour modifier le génome, mais qui ne fait plus partie du génome à la fin du processus.

La catégorie II peut elle-même être subdivisée en :

Catégorie IIA: organismes au génome desquels ont été ajoutés de nouveaux gènes à l'aide du système CRISPR/Cas9. Selon le droit en vigueur, les organismes de cette catégorie sont des OGM.

Catégorie IIB: organismes dans le génome desquels des gènes spécifiques ont été désactivés, modifiés et/ou éliminés avec des gènes CRISPR/Cas9 sans ajout de nouveaux gènes. Ils peuvent être considérés comme des organismes édités non transgéniques. Sur le plan du droit, on ne sait pas actuellement si ce sont des OGM ou non.

Applications

Tout comme les méthodes classiques du génie génétique, l'édition génomique faisant appel au CRISPR/Cas9 est une technique transversale, et peut donc être utilisée dans de multiples domaines différents. Mais à la différence des méthodes classiques, elle permet des applications nouvelles et plus variées (pour les applications des gene drives, voir « Le cas spécial du forçage génétique »).

Tableau 3: Domaines d'application du système CRISPR/Cas9.

Domaine humain

Interventions thérapeutiques sur la lignée germinale

Étant donné que les méthodes classiques du génie génétique manquent de précision et font des erreurs, il n'a pas été possible à ce jour d'intervenir à des fins thérapeutiques dans la lignée germinale humaine. Même si la précision CRISPR/Cas9 est considérée aujourd'hui comme encore insuffisante, les chercheurs pensent pouvoir améliorer ce nouvel outil de manière à ce que les interventions thérapeutiques sur la lignée germinale deviennent techniquement possibles et sûres. En Chine, des essais avec la Cas9 ont déjà été effectués sur des embryons humains non viables. En Grande-Bretagne et en Suède, des scientifiques ont obtenu l'autorisation de modifier des embryons sains au moyen du CRISPR/Cas9 à des fins de recherche.

Thérapie génique somatique

Par rapport aux méthodes classiques du génie génétique, le CRISPR/Cas9 ouvre des possibilités nouvelles d'intervenir à des fins thérapeutiques sur le génome des cellules somatiques humaines. Les ciseaux génétiques devraient notamment permettre de désactiver ou de corriger sélectivement des gènes responsables de certaines pathologies. Des groupes pharmaceutiques tels que Bayer ou Novartis sont très intéressés par le CRISPR/Cas9 et dans le monde entier, plusieurs centaines de millions de francs ont déjà été engagés dans des startups qui travaillent au développement de thérapies par la modification du génome, comme la société *CRISPR Therapeutics*, dont le siège est à Bâle. En Chine et aux USA, de premières préparations thérapeutiques géniques faisant appel au CRISPR ont été testées en 2016 sur de grands malades. En Suisse, il n'existe actuellement aucune préparation thérapeutique génique sur le marché, alors que dans l'UE, deux produits sont autorisés (Glybera et Strimvelis).

Greffes d'organes

Les milieux de la recherche estiment que le CRISPR/Cas9 permettra d'utiliser en médecine humaine des organes porcins ou humains issus de chimères homme-animal. *Voir plus loin « Xénogreffes »* et « Travaux sur les chimères ».

Domaine non humain: applications aux règnes animal et végétal

Sélection variétale dans l'agro-alimentaire

Le CRISPR/Cas9 s'est rapidement répandu dans la biotechnologie végétale. Il a déjà été expérimenté sur plus de 20 espèces végétales. Des groupes tels que Monsanto et Dupont Pioneer devraient lancer dans les cinq prochaines années leurs premières variétés CRISPR. Lorsque le CRISPR/Cas9 est utilisé pour la sélection variétale, on obtient deux catégories de produits : les variétés transgéniques et les variétés éditées non transgéniques.

Variétés transgéniques : le CRISPR permet, tout comme les méthodes classiques du génie génétique, d'introduire des gènes dans le génome de plantes. Le CRISPR est censé avoir l'avantage de faciliter le « gene stacking », c'est-à-dire l'obtention de variétés disposant de plusieurs gènes d'une autre espèce. Étant donné que les variétés transgéniques obtenues au moyen du CRISPR sont sur le plan du droit des OGM, la situation au niveau de la commercialisation de cette catégorie de variétés CRISPR sera comparable avec la situation actuelle en matière d'OGM : elles seront mises sur le marché essentiellement par des multinationales pour des plantes cultivées à grande échelle dans le monde, comme le maïs, le soja ou le coton.

Variétés éditées non transgéniques : à la différence des méthodes classiques du génie génétique, le système CRISPR/Cas9 permet d'obtenir des variétés éditées non transgéniques. Jusqu'à maintenant, on arrive principalement à désactiver et à éliminer des gènes. La modification de gènes spécifiques, une option plus intéressante pour le sélectionneur que la désactivation et l'élimination de gènes, s'est jusqu'ici révélée difficile. Dans de nombreux pays, les variétés éditées non transgéniques ne sont pas clairement définies sur le plan du droit. Faut-il les traiter comme des variétés transgéniques ? Leurs utilisateurs demandent à ce qu'elles soient considérées comme les variétés sélectionnées selon les méthodes classiques. Dans les pays où cela leur permet de s'imposer, des variétés CRISPR devraient dès lors rapidement arriver sur le marché, même pour les cultures dont il n'existe pas encore de variétés génétiquement modifiées. De plus, CRISPR pourrait dans ce cas devenir intéressant non seulement pour les grandes multinationales, mais aussi pour les petites et moyennes entreprises sélectionneuses.

Le CRISPR/Cas9 donne un nouvel élan au génie génétique dans la sélection animale. Comme dans la sélection végétale, on peut distinguer deux catégories de produits : les animaux transgéniques et les animaux édités non transgéniques.

Animaux transgéniques : en comparaison des méthodes classiques du génie génétique, le CRISPR/Cas9 simplifie effectivement l'obtention d'animaux transgéniques. Toutefois, comme ceux-ci sont considérés sur le plan du droit comme des OGM, leur production ne présente guère d'intérêt pour les entreprises : les coûts d'enregistrement sont trop élevés, et leur acceptation par les consommateurs-trices est trop faible. Il est par conséquent peu probable que des animaux transgéniques CRISPR destinés à l'alimentation humaine arrivent sur le marché mondial au cours des années à venir.

Animaux édités non transgéniques : la possibilité offerte par le CRISPR/Cas9 de produire simplement et à peu de coûts des animaux édités non transgéniques a récemment éveillé l'intérêt des sélectionneurs. Ceux-ci partent de l'idée que ces animaux ne seront pas refusés par les consommateurs et demandent à qu'ils soient considérés comme des animaux issus de la sélection conventionnelle. Dans les pays ayant cédé à cette demande, il faut s'attendre à l'apparition sur le marché d'animaux édités non transgéniques au cours de ces prochaines années.

En annexe, le lecteur trouvera des exemples d'animaux édités non transgéniques.

Sélection animale pour la médecine humaine

Dans la recherche médicale, le système CRISPR/Cas9 est utilisé pour obtenir des modèles de maladies ou des donneurs d'organes : en comparaison des méthodes classiques du génie génétique, le CRISPR/Cas9 permet de fabriquer plus simplement, plus rapidement et à moindres coûts des modèles de maladie. Il permet également de tester sur l'animal des combinaisons plus complexes de caractères. Le nombre des souris et des rats génétiquement modifiés utilisés dans la recherche fondamentale devrait continuer d'augmenter avec l'utilisation du CRISPR/Cas9, qui pourrait en outre accroître l'utilisation de porcs et de singes comme modèles de maladies.

Xénotransplantation : le CRISPR/Cas9 marque un retour en force de la production de porcs génétiquement modifiés pour les xéno-greffes. Pour la première fois depuis 15 ans, l'industrie engage de nouveau des fonds dans ce domaine. En comparaison des méthodes classiques du génie génétique, il donne la possibilité d'opérer plus rapidement et à moindres coûts des modifications beaucoup plus conséquentes du génome porcin; de telles modifications seront certainement nécessaires pour rendre possibles et sûres les greffes d'organes du porc sur l'être humain. Des chercheurs de la société étatsunienne eGenesis travaillent par exemple sur la production de porcs présentant des modifications sur plus de 60 sites du génome.

Recherche sur des chimères : Le CRISPR/Cas9 est utilisé chez le porc et le mouton pour les modifier de telle sorte à pouvoir cultiver en eux des organes humains destinés à des greffes. Les chercheurs combinent ici le CRISPR/Cas9 avec la technologie des cellules souches.

Risque/sécurité

Tout comme pour les méthodes classiques du génie génétique, la sécurité est une préoccupation majeure dans l'édition génomique utilisant le CRISPR/Cas9. Les questions de sécurité et les préoccupations dépendent du type, du contexte et des buts de l'utilisation du système CRISPR/Cas9. En comparaison du débat sur la sécurité des méthodes classiques du génie génétique, trois éléments doivent être soulignés et sont développés ci-après :

Précision

Dans les médias, le CRISPR/Cas9 est souvent présenté comme un outil qui permet d'intervenir avec précision dans le patrimoine génétique. Même si ce système peut offrir des avantages à cet égard par rapport aux méthodes classiques du génie génétique, il y a trois raisons de ne pas le considérer comme un outil précis en lui-même (I). Le CRISPR/Cas9 peut avoir des effets dits « off-target ». Ces derniers surviennent lorsque la protéine Cas9 est guidée par l'ARNg vers un site erroné du génome et coupe à cet endroit le brin d'ADN ; (II) l'édition génomique est toujours associée à l'introduction d'une Cas9 et d'un ARNg dans une cellule. Ce processus peut entraîner des modifications involontaires du génome ; (III) la précision du système CRISPR/Cas9 dépend toujours également du soin avec lequel procède l'opérateur. Par le protocole expérimental, celui-ci peut influencer l'ampleur des modifications involontaires.

Sécurité : contrôle étatique contre autocontrôle

Selon le droit en vigueur, les produits - aussi bien ceux du domaine humain que ceux du domaine non humain - issus des méthodes classiques du génie génétique doivent subir une évaluation de sécurité par l'État. Dans le domaine non humain, les utilisateurs du CRISPR/Cas9 pour des plantes et des animaux édités non transgéniques remettent maintenant cette obligation en question et demandent à ce que ceux-ci puissent être mis sur le marché sans contrôle étatique. Les aspects suivants plaident contre cette revendication :

- >> Toute modification du patrimoine génétique, si petite soit-elle, peut engendrer des produits qui ont un effet direct ou indirect sur l'humain, l'animal, l'environnement ou la biodiversité.
- >> Le CRISPR/Cas9 permet de modifier le génome des animaux et des plantes à plusieurs endroits spécifiques – soit par multiplexing, soit par des manipulations en série. Des animaux et des plantes ayant subi des modifications multiples pourraient présenter une combinaison de caractères impossible à obtenir par des voies naturelles ou par la sélection.
- >> Les plantes et les animaux édités non transgéniques pourraient avoir des effets off-target indésirables (voir plus haut).
- >> Plantes : dans la plupart des cas, l'utilisation du CRISPR/Cas9 suppose une étape *in*

vitro où peuvent survenir des modifications involontaires (variations somoclonales).

- >> Animaux : l'édition génomique au moyen du CRISPR/Cas9 implique souvent le clonage, qui peut avoir des effets secondaires problématiques au point de vue sécurité.
- >> Plantes : la création de plantes éditées non transgéniques produit souvent comme produits intermédiaires une plante transgénique qui possède dans son génome le gène Cas9 ou des gènes de résistance aux antibiotiques. Si les gènes de la plante transgénique issus d'une autre espèce sont accidentellement encore présents dans le produit fini, cela peut poser des problèmes au point de vue sécurité.

Nouveaux risques du forçage génétique (« gene drive »)

La nouvelle méthode de forçage génétique au moyen du CRISPR/Cas9 comporte des risques qui n'existaient pas avec les technologies classiques du génie génétique. Voir à ce propos « Le cas spécial du forçage génétique ».

Tableau 4: Domaines où le CRISPR/Cas9 rend nécessaire un débat sur les questions d'éthique.

Application du CRISPR/Cas9	Description
Interventions sur la lignée germinale à des fins thérapeutiques	En Suisse, les interventions sur le génome des cellules germinales et les embryons sont interdites. Vu que le CRISPR/Cas9 rend techniquement possibles les traitements basés sur cette procédure, des acteurs de la recherche et de la médecine réclament un assouplissement de son interdiction. La Commission nationale d'éthique (CNE) considère comme incontournable un débat sociétal intensif, ouvert et transparent sur les développements techniques et leur implications éthiques.
Création de chimères homme-animal	On modifie ici des porcs et des moutons au moyen du CRISPR/Cas9 de manière à ce qu'ils soient capables de former des organes humains. Cela relance à nouveau le débat sur l'admissibilité de la production de chimères homme-animal dans la recherche biomédicale.
Modification du génome de vertébrés	La Suisse dispose d'une législation restrictive en matière d'utilisation du génie génétique sur les vertébrés, par respect de la dignité de la créature. Les manipulations génétiques sont interdites sur les vertébrés utilisés comme animaux de compagnie ou de rente dans l'agro-alimentaire. En demandant à ce que les vertébrés édités non transgéniques soient traités comme des animaux obtenus par sélection conventionnelle, les acteurs de la recherche et de l'industrie remettent en question le champ d'application de la réglementation restrictive et donc l'évaluation de l'application du CRISPR/Cas9 aux vertébrés.
Sélection de plantes éditées non transgéniques	La liberté de choix est une maxime largement acceptée dans le domaine du génie génétique et de l'alimentation. Les acteurs de la recherche et de l'industrie remettent cette maxime en question en réclamant que les plantes éditées non transgéniques soient traitées comme les plantes obtenues au moyen de méthodes conventionnelles.
Animaux utilisés comme modèles de maladies	Avec l'augmentation probable du nombre d'animaux génétiquement modifiés utilisés à des fins expérimentales avec le CRISPR/Cas9, la dignité et l'intégrité des animaux redeviennent un thème d'actualité. Le CRISPR/Cas9 doit en outre être évalué par rapport à la culture 3R* ancrée en Suisse.
Modification du génome d'animaux sauvages (forçage génétique)	Le CRISPR/Cas9 pourrait permettre de modifier génétiquement les populations d'animaux et de plantes sauvages. Les problèmes éthiques que cela soulève rendent un large débat nécessaire.

* La culture ou le principe 3R vise la réduction durable du nombre d'expériences sur les animaux, la limitation de la souffrance animale à un minimum et le développement de méthodes de substitution à l'expérimentation animale.

Ethique

Même si le système CRISPR/Cas9 échappe, vu ses nombreuses applications possibles, à une évaluation éthique globale, il est clair que l'utilisation des cis-seaux génétiques donne lieu à des interrogations et à des réserves dans de multiples domaines. Ces dernières doivent faire l'objet d'une analyse scrupuleuse dans le cadre d'un large débat. Elles dépendent du contexte où le CRISPR/Cas9 est utilisé, ainsi que de ses risques et de ses bénéfices. Dans de nombreux domaines, le CRISPR/Cas9 soulève les mêmes interrogations et réserves que les méthodes classiques du génie génétique, mais elles se posent maintenant de manière plus aiguë, notamment parce que certains acteurs profitent de la nouvelle technologie pour remettre en cause les garde-fous existants, qui sont le résultat de négociations sociétales. De plus, comme le CRISPR/Cas9 repousse les limites du faisable, il existe des domaines qui doivent encore être évalués du point de vue éthique et pour lesquels il faut mettre en place des garde-fous.

Cadre légal

Cadre légal dans le domaine humain

La législation relative aux applications du génie génétique à l'être humain dans le domaine biomédical a été complétée et concrétisée ces dernières années par plusieurs lois fédérales. Les lois actuelles posent des garde-fous éthiques clairs, avec des standards de sécurité élevés. Les applications du CRISPR/Cas9 sont probablement couvertes par les lois en vigueur, où il faudrait éventuellement clarifier si des adaptations sont nécessaires dans les détails. La production de moutons et de porcs CRISPR pour l'obtention d'organes humains est actuellement une des zones d'insécurité juridique. L'insécurité juridique est due non pas au CRISPR/Cas9, mais à l'utilisation de cellules souches humaines pluripotentes, qui n'est pas ancrée dans les lois pour cette application (tableau 5).

Cadre légal pour le domaine non humain

Pour les applications du génie génétique au domaine non humain, la Suisse dispose avec la loi sur le génie génétique (LGG) d'une législation moderne, garante de prévoyance, de sécurité, de transparence, d'implication de la population et de standards éthiques. Actuellement, on ne sait pas dans tous les cas si et comment cette loi couvre les animaux et les plantes CRISPR.

>> Cadre légal pour les plantes et les animaux transgéniques : l'introduction dans le génome d'animaux et de plantes de

gènes d'une autre espèce au moyen du CRISPR/Cas9 donne des OGM couverts par la LGG.

>> Cadre légal pour les plantes et les animaux édités non transgéniques : il n'est pas clairement établi si les plantes et les animaux édités ne comportant pas de gènes d'une autre espèce sont couverts

par la LGG. Le type de cadre légal doit donc faire l'objet d'une décision politique. Étant donné que dans le secteur agricole, la Suisse est tributaire d'importations de l'étranger, le cadre légal relatif aux plantes et aux animaux édités non transgéniques à l'étranger, et notamment dans l'UE, joue un rôle important dans le débat (voir plus loin). Les tableaux 6 et 7 montrent les conséquences de leur classement dans la catégorie des OGM

>> Cadre légal pour les organismes avec forçage génétique : selon le droit en vigueur, les animaux et les plantes avec des gènes drives sont des OGM et relèvent du champ d'application de la LGG. Il y a cependant nécessité d'agir dans ce domaine car les risques spécifiques de ces animaux et de ces plantes imposent une adaptation de l'ordonnance sur l'utilisation confinée et de l'ordonnance sur la dissémination dans l'environnement. Voir aussi « Le cas spécial du forçage génétique ».

Tableau 5 : Admissibilité des applications du CRISPR/Cas9 sur l'être humain en Suisse et lois et ordonnances en vigueur.

Applications du CRISPR/Cas9 sur l'être humain	Admissibilité	Lois et ordonnances
Recherche fondamentale		
Édition génomique sur cellules somatiques	Admis	?
Édition génomique sur embryons	Interdit	Loi sur la procréation médicalement assistée
Travail sur les cellules germinales à des fins thérapeutiques	Interdit	Loi sur la procréation médicalement assistée
Thérapie génique somatique	Admis	Loi relative à la recherche sur l'être humain, loi sur les produits thérapeutiques, ordonnance sur les essais cliniques de produits thérapeutiques
Greffes d'organes ou de tissus de porcs CRISPR	Admis	Loi sur la transplantation, ordonnance sur la xénotransplantation
Production de chimères homme-animal	Pas clair	Loi relative à la recherche sur les cellules souches, loi sur la procréation médicalement assistée

Tableau 6 : Conséquences de la définition des plantes éditées non transgéniques comme étant des OGM.

	Les plantes éditées non transgéniques sont des OGM	Les plantes éditées non transgéniques ne sont pas des OGM
Autorisation obligatoire pour la dissémination expérimentale	oui	non
Autorisation obligatoire pour la mise en circulation en tant que denrées alimentaires	oui	non
Évaluation des risques par l'État avant utilisation dans l'environnement	oui	non
Obligation de mentionner le recours au génie génétique dans l'étiquetage	oui	non
Registre public des produits autorisés	oui	non
Participation de la population aux procédures d'autorisation	oui	non
Traçabilité du champ à l'assiette	oui	non
Droit de recours pour les organisations de protection de l'environnement	oui	non
Protection des produits bio contre les contaminations	oui	non
Interdiction de mise en circulation jusqu'à fin 2017 (moratoire)	oui	non

Tableau 7: Conséquences de la définition des vertébrés édités non transgéniques comme étant des OGM

	Les vertébrés édités non transgéniques sont des OGM	Les vertébrés édités non transgéniques ne sont pas des OGM
Autorisation obligatoire pour la production et la commercialisation	oui	non
Production interdite pour l'alimentation	oui	non
Production interdite comme animaux de compagnie	oui	non

Législation sur la protection des animaux

La production et l'utilisation d'animaux CRISPR tombent sous le coup de la législation sur la protection des animaux. Il faut clarifier ici si les animaux édités non transgéniques sont couverts ou non par les dispositions valables pour les animaux OGM.

Champ d'application/portée du moratoire

Comme on ne sait pas encore aujourd'hui si les animaux et les plantes édités non transgéniques sont des OGM sur le plan du droit, il s'agit aussi de clarifier s'ils sont couverts par les moratoires en vigueur. Les animaux et les plantes avec gene drives faisant appel au CRISPR/Cas9 sont des OGM, mais ne doivent pas nécessairement tomber sous le coup du moratoire en vigueur. En effet, le moratoire ne couvre que les OGM utilisés dans l'agriculture, l'horticulture ou la sylviculture.

Droit régissant le CRISPR/Cas9 dans l'agriculture biologique au niveau fédéral

Au plan fédéral, l'utilisation d'OGM dans l'agriculture biologique est - à quelques exceptions près - interdite. Étant donné qu'on ne sait pas actuellement si les plantes et les animaux édités non transgéniques doivent ou non être considérés comme des OGM, il s'agit de clarifier si l'utilisation de ces animaux et de ces plantes est autorisée ou pas dans chaque cas individuel sur le plan du droit fédéral.

Cadre légal des plantes et des animaux édités non transgéniques à l'étranger

Cadre légal dans l'UE : actuellement, la réglementation concernant des plantes et les animaux édités non transgéniques n'est pas claire. La Commission européenne entendait publier jusqu'à la fin de l'année 2016 sa position sur la question de savoir si ces animaux et ces plantes tombent ou non sous le coup de la législation sur le génie génétique. Il est cependant probable que la publication de ce document va être repoussée. Au début du mois d'octobre, la Section du contentieux du Conseil d'État français s'est adressée à la Cour de justice des Communautés européennes (CJCE) sur la question du cadre légal concernant les plantes et les animaux édités non transgéniques.

Celle-ci devrait répondre dans les 18 mois à venir. Il faut supposer que la Commission européenne attendra la réponse de la CJCE.

Cadre légal aux États-Unis : il n'y a pas eu à ce jour de décision globale sur le cadre légal à donner aux organismes édités non transgéniques. Le gouvernement a chargé les autorités responsables de réviser le système existant constituant la base légale des biotechnologies et de l'adapter au CRISPR/Cas9. Le ministère de l'agriculture a traité jusqu'ici deux demandes venant d'utilisateurs concernant ce cadre légal : la première concerne un maïs cireux, l'autre un champignon de Paris. Dans chaque cas, il y a eu élimination d'un gène au moyen du CRISPR et dans chaque cas, le ministère de l'agriculture a répondu que ces organismes ne doivent pas être traités sur le plan du droit comme des OGM.

Société

Depuis que le génie génétique existe, ses applications sont controversées et font l'objet d'un débat sociétal. En Suisse, le débat a abouti à la création d'un cadre légal sévère, avec des limites claires et des garde-fous. Comme le CRISPR/Cas9 soulève de nouvelles questions d'éthique et engendre de nouveaux problèmes de sécurité, et étant donné que les chercheurs prennent cet outil comme prétexte pour affaiblir la notion de génie génétique et pour déplacer les garde-fous éthiques, un débat à large échelle s'impose afin d'empêcher la recherche de créer des faits accomplis et de permettre à la population de prendre position.

* Le présent document a été réalisé avec le soutien technique de Benno Vogel

Traduction pour les parties en allemand :
Monique Muraglia

Annexe – Exemples de projets CRISPR/Cas9 pour l'obtention d'animaux, de plantes et de champignons édités non transgéniques.

Espèce	But	Pays	État du projet
Animaux de rente			
Barbue de rivière	Croissance plus rapide	USA	Étude publiée
	Contrôle du sexe	USA	Idée de projet publiée
Poule	Oeufs non allergènes	Japon	Étude publiée
Vache	Plus de lait	USA	Idée de projet publiée
	Lait non allergène	Nouvelle-Zélande	Idée de projet publiée
	Tolérance à la chaleur	USA	Idée de projet publiée
Saumon	Absence de cellules germinales	Norvège	Étude publiée
Mouton	Plus de viande	Chine	Étude publiée
	Poil plus long	Chine	Étude publiée
	Contrôle du sexe	USA	Étude publiée
Porc	Plus de viande	Chine	Étude publiée
	Résistance au PRRS	Angleterre, USA	Étude publiée
Tilapia	Contrôle du sexe	Chine	Étude publiée
Chèvre	Plus de viande	Chine, USA	Étude publiée
	Plus de viande, poil plus long	Chine	Étude publiée
	Lait non allergène	Chine, USA	Étude publiée
Plantes cultivées			
Arachide	Non allergène	Angleterre	Idée de projet publiée
Concombre	Résistance virale	Israël	Étude publiée
Pomme de terre	Moins d'acrylamide	USA	Idée de projet publiée
	Résistance à la gale commune	Allemagne	Idée de projet publiée
Maïs	Amidon sans amylose	USA	Cultures expérimentales
Colza	Résistance à la verticilliose	Allemagne	Idée de projet publiée
Riz	Résistance à la pyriculariose (Magnaporthe grisea)	Chine, USA	Étude publiée
	Résistance à la nielle bactérienne	USA	Étude publiée
Tomate	Retardement de la maturation	Angleterre	Étude publiée
	Résistance à l'oïdium	Angleterre	Idée de projet publiée
Raisin	Résistance au mildiou	USA	Idée de projet publiée
Blé	Résistance à l'oïdium	Chine	Étude publiée
Champignons			
Champignon de Paris	Allongement de la durée de conservation	USA	Prêt à la commercialisation