

CRISPR-CAS 9 : QUAND L'ARLÉSIENNE REFAIT SURFACE ou le retour de la thérapie génique – devenue correctrice – à l'avant-scène

Elle a été portée dès le début des années '80 par les premiers triomphes de la biologie moléculaire, attendue comme la solution nette et définitive par tous deux qui devaient leur pathologie à une mutation unique, par tous ceux dont le cancer semblait devoir son existence au dérapage d'un proto- ou d'un anti-oncogène ; et par extension, par tous ceux qui pensaient qu'on allait enfin se montrer maître d'un génome hérité sans choix de ses père et mère.

Quelques essais fondateurs ont tourné court. Normal : on avait sans doute brûlé quelques étapes essentielles. Le succès devait être pour demain. Mais les lendemains successifs ont tardé à faire poindre les victoires attendues. Le temps a passé. La désillusion a grandi ; à tel point que la « thérapie génique » - puisque c'est d'elle qu'il s'agit – a été déclarée en état de mort clinique dans les toutes premières années du XXI^e siècle. On avait rêvé. On y avait cru. On en avait parlé plus qu'on ne l'avait vu agir. Trop beau, trop complexe. Trop dangereux sans doute aussi. Et l'Arlésienne est repartie dans le maquis de l'illusion scientifique.

Mais la recherche progresse ; dans les mille et une directions où la curiosité la pousse. On débusque quelques mécanismes jusque-là inconnus chez des bactéries, on identifie de nouveaux terrains d'actions pour quelques enzymes ou pour d'autres protéines. Des virus se laissent manipuler, conduire, vider des gènes qui les rendent agressifs. On détourne des cellules de leur fonction première, on éteint ou amplifie l'expression de gènes ciblés.

Et puis quelques esprits opportunistes tentent des rapprochements, mettent en relation des réalités disparates. Des processus sont élaborés dans la visée d'objectifs novateurs ; ou bien dans celle d'objectifs anciens, presque oubliés. Et la thérapie génique reprend corps, comme la créature du besogneux Frankenstein, la prudence en plus. Vingt-cinq, trente ans plus tard, le vieux rêve de la thérapie génique reparaît, avec tout le poids d'une expérience acquise. Et tout semble redevenir possible. Autrement, mais plus efficacement sans doute aussi. En 2014, une souris adulte est guérie d'une maladie héréditaire, la tyrosinémie de type I^{1,2}. Après une seule injection. 1% des cellules dont le génome est modifié suffisent à établir le succès et à déclarer le traitement efficace ; un mois plus tard, la proportion des cellules concernées est passée à 30% et la souris est déclarée guérie. Définitivement.

La souris n'est pas l'homme et une pathologie n'est pas l'autre ; mais le succès est incontestable. Et l'avenir est en marche.

L'ORIGINE

C'est à l'identification des processus naturels de défense de la bactérie que la méthode novatrice doit l'essentiel de sa réalité. Encore fallait-il en déchiffrer les rouages. Et pourtant, ces processus existent depuis l'aube du vivant, dont la bactérie et autres archées (organismes très primitifs) restent les témoins. Pour unicellulaire qu'elle soit, la bactérie est, elle aussi, la cible de plus petits qu'elle, virus (bactériophages) et plasmides³. Mais elle sait se défendre et le fait activement, en passant à l'attaque.

A peine envahie, elle « capture » de petits fragments de l'ADN des envahisseurs et les intègre dans son propre génome. Ces fragments sont courts, de l'ordre de 30 nucléotides⁴. Comme tout ADN, celui de la bactérie peut être transcrit en ARN⁵. Les fragments intégrés n'échappent pas à cette règle fondamentale et les ARN produits sont qualifiés de pré-CRISPR (pré-crRNA – CRISPR décrit leur structure : Clustered Regularly Interspaced Short Palindrom Repeats).

Ceux-ci sont alors traités par la cellule pour devenir des ARN-CRISPR (*crRNA*) qui donnent naissance à la défense spécifique évoquée comme le fait une cellule humaine face à la présence d'un antigène.

Ce processus de défense vieux comme la vie unicellulaire, c'est la base de la méthode. Encore faut-il lui adjoindre les mécanismes qui permettent d'opérer le découpage de l'ADN (de ses deux brins) à l'endroit précis du gène à corriger (précisément grâce au marqueur identifiant CRISPR), de supprimer la séquence non conforme (mutante) et de la remplacer par celle qui est normalement constituée. Le tout, bien entendu, à effectuer sur un nombre significatif de cellule (chez l'animal et chez l'homme) pour que l'effet attendu se montre significatif.

L'enzyme retenue est une *nucléase* (c'est à dire un enzyme capable de couper les acides nucléiques), plus précisément la *Cas 9⁶* (CRISPR-

associated 9). Le processus qui lui est associé est *CASPR⁷*, celui qui a été identifié chez la bactérie. Et la juxtaposition des deux est à l'origine de la dénomination un peu cryptique sinon barbare de la méthode. Pour être complet, il faut reconnaître que la méthode au détail de laquelle on va venir, n'a pas été d'emblée celle-là ; mais elle a rapidement évolué, notamment dans le choix de l'enzyme utilisée (la *nucléase*) dans la coupe de l'ADN réalisée à l'endroit précis où on veut la voir survenir. Il y a quelques années encore, les *nucléases dites à doigts de zinc* avaient la préférence ; en 2011, les *nucléases de l'effecteur TAL* (TALEN - Transcription activator-like effector nuclease) ont pris le pas avant de le céder à *Cas9*, plus simple à utiliser. Ce n'est peut-être pas encore la fin de la série, mais dans l'intervalle, la méthode a gagné en spécificité. On aura au passage également compris à la lecture des acronymes utilisés que la méthode relève d'une pratique de laboratoire très spécialisée.

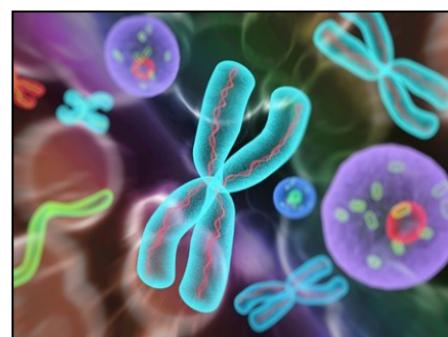
LA MÉTHODE

Assez généralement, la suppression d'un gène ou sa substitution par une version différente s'appelle *Genome editing*. La formule est certes anglo-saxonne – ce qui est classique en biologie du gène – mais plus confortable que son appellation géno-enzymatique complexe « *CRISPR–Cas 9* ».

La méthode repose en premier lieu sur un ARN guide (gRNA) composé de deux séquences de nucléotides. La première compte 42 éléments et la seconde, variable dans sa composition, en compte 20, mais elle est surtout complémentaire de la séquence d'ADN à découper. D'où la précision de la méthode et l'origine de l'appellation « guide » pour cet ARN-là.

Le second élément est une *nucléase*, une enzyme spécifiquement capable de couper un ADN double brin comme c'est le cas dans les cellules humaines. Il s'agit bien entendu de *Cas9*. Nanti de ces deux éléments, on peut réaliser une section double brin à un endroit précis du génome. Reste à voir ce qu'on veut y faire. Veut-on, comme c'est le plus souvent le cas, corriger une séquence d'ADN mal construite ? Il faut ajouter la séquence correcte aux deux précédents éléments. Elle constitue la troisième pièce du montage à réaliser. Pratiquement, cel-

le-ci ne doit pas dépasser 100 à 200 nucléotides de long. Pourquoi ? Parce que pour que l'ensemble puisse pénétrer les cellules du corps, il faut que le tout (gRNA, *Cas9* et séquence correctrice) entre en entier dans un transporteur, plus communément appelé *vecteur*. La nature en produit spontanément : il s'agit le plus souvent de virus. Dès que le virus retenu est débarrassé des quelques gènes responsables de sa virulence, il reçoit le montage moléculaire réalisé, il est multiplié en culture et les nombreuses copies obtenues sont injectées dans le réseau circulatoire de l'individu à soigner. Simple en théorie. On aura toutefois compris que les « détails » à régler sont nombreux, qui relèvent d'une technologie qui n'est – pour l'heure en tout cas – accessibles qu'à quelques laboratoires très spécialisés.



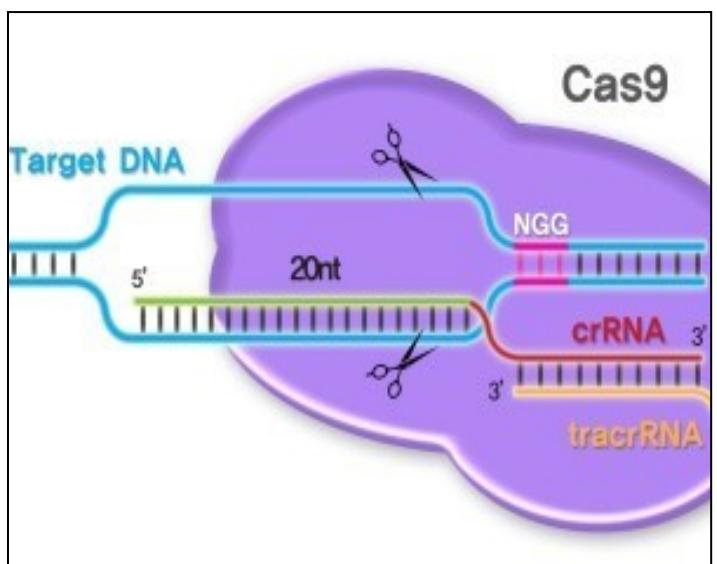
QUELQUES « DÉTAILS » À GÉRER

On peut, juste pour l'exemple, évoquer l'un ou l'autre de ces détails. Le premier tient à la séquence correctrice introduite. Elle doit, on l'a dit, ne pas excéder une taille finalement modeste, rapportée à celle de l'ADN. Il faut donc se montrer très sélectif dans le choix opéré et ne retenir que la courte portion à substituer à celle qui est erronée. Il faut ensuite qu'elle s'adapte à chacune des deux marges de l'ADN cellulaire coupé par Cas9. Il faut enfin qu'elle se fixe du côté distal à une très courte séquence (de 3 à 5 nucléotides) dénommée PAM (pour *protospacer adjacent motif*). Cette séquence a pour objet de « recaler » la lecture de la séquence introduite là où elle va être lue, comme on le fait pour une séquence de film lors d'un montage⁸. On sait en effet que le message porté par l'ADN est converti en protéines par l'intermédiaire des ARN messagers. Ce message tient aux alignements de nucléotides lus 3 par 3 (ce sont les « codons »). Pour qu'un message, quel qu'il soit, soit correctement transcrit dans la protéine souhaitée, il faut que les codons soient lus dans le bon ordre, tout décalage d'un seul nucléotide donnant lieu à un résultat complètement différent.

Un autre détail tient à la multiplication des virus utilisés pour « inoculer » la séquence correctrice dans le corps à soigner. Pour rendre l'organisme non pathogène, il faut d'abord éteindre les gènes qui sont responsables de sa virulence, ce qui implique déjà une technologie spécifique. La place laissée vacante permet d'introduire la séquence correctrice dont la taille ne peut évidemment déborder l'espace disponible. Enfin, il faut multiplier un très grand nombre de fois ces vecteurs modifiés. Les virus ont spontanément cette aptitude, pense-ton. C'est vrai ; à part que dans le cas présent, on a supprimé les gènes qui permettent précisément cette multiplication massive. Il faut par conséquent avoir recours à un subterfuge. Celui-ci est connu depuis longtemps et a valu à son inventeur – David Baltimore – son second Prix Nobel. Il tient à une idée simple : transférer à des cellules simples, faciles à multiplier *in vitro*, les gènes de virulence extraits des virus vecteurs ; ce ne sont donc plus les virus inoculés dans les cellules qui se multiplient en grand nombre, ce sont les cellules investies par les

virus qui le font à leur place. Encore fallait-il réussir ce tour de force technologique.

Un dernier « détail » encore (il y en a d'autres) : il faut que la correction apportée se montre efficace, si possible après une seule injection. Or le corps humain compte 10.000 milliards de cellules. Il serait vain d'imaginer quelles puissent toutes être l'objet de la correction. C'est d'autant moins nécessaire que la pathologie à corriger concerne le plus souvent un seul organe en priorité. Ce qui ramène le nombre de cellules à cibler à quelques... dizaines de milliards seulement. Les atteindre toutes reste encore illusoire. L'objectif tient donc à l'évaluation d'une taille critique : quelle est la proportion de cellules à modifier pour que l'effet soit significatif et que les effets de la pathologie soient réduits sinon éradiqués ? On a vu avec l'exemple de la *Tyrosinémie de type 1* évoqué qu'un seul pour cent y suffit au départ, la régénération cellulaire naturelle faisant ensuite le reste. Une pathologie n'est toutefois pas superposable à une autre et il n'est pas impensable de considérer que, dans certains cas, des inoculations de vecteurs doivent être répétées à termes réguliers pour entretenir un effet thérapeutique qui aurait tendance à diminuer avec le temps.



« GENE EDITING » VERSUS THÉRAPIE GÉNIQUE

Cette nouvelle méthode présente un avantage réel par rapport à la thérapie génique, telle qu'elle a été proposée à l'origine ; un avantage qui tient à plusieurs points qui font toute la différence.

D'abord, on ne se contente plus de *remplacer* un gène anormal (mutant) par une version correcte : on le *corrige*. La différence est fondamentale. Dans le cas de la thérapie génique, les deux copies discordantes restaient en place, ce qui permettait au gène « malade » d'entretenir ses effets pathologiques en cas de dominance. C'est désormais terminé, au moins pour toutes les cellules qui ont pu être ciblées par la correction apportée.

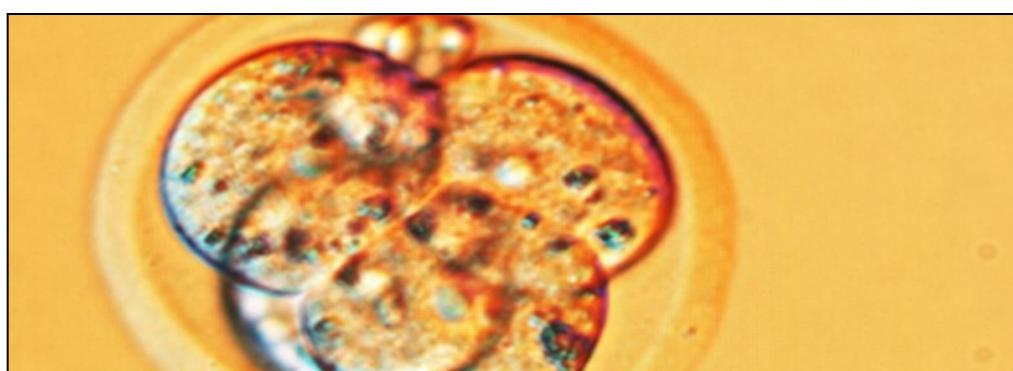
Autre avantage : la séquence correctrice est insérée au bon endroit, là où se trouve la section du gène à modifier. On bénéficie en outre des effets de l'« environnement » immédiat de l'ADN dont on sait qu'il peut agir sur l'expression des gènes proxi-maux. Avec la thérapie génique, l'insertion se faisait au hasard et on sait à quel point celui-ci fait parfois (ou souvent ?) mal les choses. Plus d'une fois, dans un passé récent, la séquence correctrice est allée s'insérer à l'endroit où on s'y attendait le moins, faisant émerger, par simple effet de malposition, des anomalies aussi importantes que celles que l'on souhaitait supprimer. L'implication d'un ARN *guide* est dorénavant ce qui permet le positionnement idéal. Au moins en théorie. Rien n'interdit en effet encore qu'une séquence d'ADN à couper – en préalable à une insertion – soit reconnue pour une autre, les séquences répétitives de nucléotides étant nombreuses. C'est du reste une des améliorations à viser : réduire le risque de malposition de la séquence correctrice, une situation que les spécialistes qualifient de « position off target » (hors cible).

On a notamment remarqué que Cas9 manque de spécificité ; qu'il peut opérer une coupure « double brin » de l'ADN à d'autres endroits que ceux qui sont spécifiés par l'ARN guide. D'où la recherche de variants plus spécifiques. De nombreux travaux sont menés en ce sens et deux d'entre eux ont déjà mené à l'identification de molécules (eSpCas9 et SpCas9-HF1) dont la plus grande spécificité a été démontrée.^{9,10}

En résumé, il faut :

1. connaître la courte séquence d'ADN à corriger (200 nucléotides maximum) ;
2. créer un ARN guide (gRNA) capable de reconnaître la séquence d'ADN anormale ;
3. composer la séquence d'ADN normale de substitution ;
4. élaborer un montage associant *gRNA – Caspase9 – séquence ADN correctrice* ;
5. disposer d'un vecteur viral dépourvu de ses gènes de virulence et y insérer le montage (ce virus est en général un AAV, un *virus adénovecté*) ;
6. faire proliférer les virus modifiés et les récolter ;
7. injecter la suspension de virus dans le sujet à traiter ;
8. espérer que le montage vienne s'insérer dans un maximum de cellules à l'endroit prévu.

Cette courte liste ne reprend que les étapes principales du procédé.



UN CHAMP D'APPLICATION IMMENSE

Il va de soi que ce type de correction de l'ADN, qui constitue par son degré de précision une amélioration substantielle par rapport à la thérapie génique, est de nature à être exploité dans tous les cas où une anomalie ponctuelle de l'ADN, porteuse d'une pathologie invalidante, pourra être corrigée.

Chez l'humain, on envisage une application prochaine dans le cas de l'amaurose (anomalie de la vision), de l'anémie falciforme, de la bêta-thalassémie, dans toutes les maladies monogéniques (qui doivent leur origine à l'anomalie d'un seul gène) ainsi que dans de nombreuses formes de cancer. C'est en particulier le cas de la dystrophie musculaire de Duchenne (DMD – gène DMD, codant la synthèse de la dystrophine, porté par le chromosome X, transmission récessive). Cette affection qui affecte un petit garçon sur 3500 à 5000, mène à une dégradation progressive, létale et toujours sans remède de toute la musculature, entre autres cardiaque et squelettique. Elle représente par conséquent un domaine d'application du *gene editing* parmi les plus urgents et les plus évidents.

Plusieurs essais ont d'ores et déjà été menés avec un succès relatif, mais sur cellules myocardiques en culture d'abord, sur des souris ensuite^{11,12}. La démarche correctrice, dans ce cas, a consisté à

supprimer un exon fautif du gène mutant (l'exon est la partie codante du gène). La protéine formée est certes tronquée, mais elle est fonctionnelle, même si c'est imparfaitement. Quelques semaines après traitement, on a remarqué une augmentation de la fonction musculaire générale et cardiaque en particulier, de l'ordre de 4 à 15%. Quand la méthode aura gagné en spécificité et en efficacité, on pense qu'elle pourra être appliquée avec un bénéfice attendu à 80% des cas de dystrophie musculaire.

Aussi prometteuse que la méthode paraisse, elle souffre encore d'une imprécision relative : il faut en effet s'assurer que la correction apportée s'inscrive avec certitude dans la séquence de l'ADN visée.

Il ne faut pas oublier par ailleurs que la régulation génique est complexe ; que modifier un gène ou un fragment de gène peut avoir des implications inattendues dans la lecture qui en est faite ensuite en ARN puis en protéine si une erreur, fût-ce d'un seul nucléotide, s'est glissée dans la réalisation. D'où la nécessité de prendre toutes les garanties nécessaires avant de faire de cette réalisation de laboratoire un outil thérapeutique d'avenir. Comme d'autres avancées récentes de la science, le *gene editing* soulève quelques questions éthiques fondamentales.

UNE DIMENSION ÉTHIQUE

La mise en œuvre clinique, thérapeutique, du *gene editing* pose évidemment une grave question éthique dans la mesure où, dans la perspective de la correction définitive d'une mutation héritée, c'est au niveau embryonnaire que la méthode trouve sa plus grande efficacité, c'est-à-dire quand le jeune produit de conception ne compte encore que quelques cellules. Peu de cellules, cela signifie que la correction apportée a de bonnes chances d'affecter un plus grand nombre de tissus du futur enfant et de l'adulte qu'il deviendra. Cette perspective apparaît d'autant plus évidente que des chercheurs de l'université de Guangzhou (Chine) l'ont testée sur des embryons issus de la fécondation humaine *in vitro*, impropre à un transfert^{13,14}. (Il faut donc pouvoir diagnostiquer très tôt (*in vivo* ou *in vitro* (FIV)) le trouble génétique).

Rien n'interdit par ailleurs de penser que le même type de modification ne puisse être apporté aussi à des cellules germinales, afin de supprimer de façon en principe définitive le risque de transmission aux générations à venir. Le concept est en soi porteur de sens ; il sous-entend toutefois une foule d'inconnues qui tiennent aux réalités encore souvent mal maîtrisées de l'expression des gènes et de son contrôle.

La science progresse et on a tout lieu de s'en réjouir. Elle le fait souvent vite et, dans le registre de la biologie du gène, la compréhension de ses réalités, développements et objectifs nécessite une compétence de plus en plus pointue.

Pour appréhender la portée des développements thérapeutiques potentiels d'une méthode telle que le *gene editing*, il faut aller bien au-delà de la compréhension liminaire qu'en offrent souvent les médias. Une première lecture permet de comprendre qu'il s'agit d'une méthode qui permet de corriger des gènes anormaux ; donc de mettre fin de façon en principe définitive à des pathologies parfois très invalidantes. C'est le message que beaucoup risquent de retenir et, parce qu'ils sont concernés de près ou de loin par des applications potentielles, ils vont exiger que celles-ci soient autorisées. La demande est légitime. Il demeure que personne – le spécialiste n'en est pas exclu – ne peut certifier au stade actuel des connaissances que l'application à

l'humain soit sans risque. Même quand on y met les formes, les risques – surtout lorsqu'ils sont faibles – n'apparaissent souvent qu'a posteriori. L'histoire biomédicale est jalonnée des effets parfois dramatiques de ceux qui n'ont été découverts que trop tard. Et par appât du gain les laboratoires n'hésitent pas à faire prendre des risques.

Il va de soi que la méthode va évoluer, gagner en fiabilité ; qu'en cas d'application, on va la réserver au début à des indications très ciblées. Mais elles risquent, comme souvent quand on gagne en confiance, de s'étendre ensuite à des domaines plus aventureux. Si une application est envisageable, elle doit donc aussi être raisonnée et suivie.

QUEL AVENIR POUR LA TECHNIQUE ?

Comme souvent lorsque de nouvelles technologies touchent au fondement de la vie, un débat prend corps qui met en opposition, dans les revues scientifiques, promoteurs et opposants^{15,16,17}. Les premiers cités ne voient que les avantages, rappelant au passage toute la prudence dont ils entendent entourer leurs essais, tandis que les seconds, tout en attestant de l'intérêt de la méthode, prétendent qu'une extrême prudence est de rigueur et appellent si nécessaire, à un moratoire. En clair et pour simplifier, c'est le contexte permanent et inconciliable du verre à moitié plein et de celui qui est à moitié vide.

De nombreux pays, avec les progrès dont la science n'est pas avare depuis une quarantaine d'années, ont édicté des lois, recommandations et autres dispositions souvent restrictives quand elles n'interdisent pas complètement certaines approches (dispositions qui sont bien rarement respectées). Ces dispositions concernent aussi bien la modification de lignées germinales, le diagnostic préimplantatoire, le clonage reproductif ainsi, dans certains cas, que la recherche qui y est relative¹⁸. En matière de thérapie génique au bénéfice des seules cellules somatiques, l'attitude semble surtout attentiste et alimente le débat « *pros and cons* » évoqué plus haut. Il semble aller de soi que toute application clinique de méthodes réalisées jusque-là sur des cellules *in vitro* ou sur des modèles animaux de-

vra répondre, quel que soit le pays, à des conditions strictes de validation préalable. On se souvient à ce propos des cas malencontreux de leucémie induits par la thérapie génique appliquée à des « bêbés-bulles » à la fin du siècle dernier¹⁹.

C'est le temps et l'accumulation des connaissances additionnelles qui trancheront. Les pressions multiples aussi, peut-être et en particulier celles qui tiennent au traitement enfin envisageable de pathologies létales jusqu'ici sans remède. A l'heure qu'il est, il reste difficile de s'avancer davantage quant aux options qui seront prises.

A cause des abus qui ne manqueront pas de se produire, débouchant sur un réel transhumanisme, faut-il renoncer à une méthode de traitement qui deviendra à terme efficace ? Que dire à des candidats parents qui se savent porteurs d'un gène létal ? C'est aussi tout le problème des diagnostics précoce in utero ou éventuellement du diagnostic pré-implantatoire.

Enfin, les techniques médicales sophistiquées sont onéreuses et seront donc toujours le plus souvent réservées à une « élite » qui pourra se les offrir. Faut-il investir dans des « techniques de pointe » quand, sur la planète, beaucoup n'ont pas accès à des soins primaires élémentaires ?

Bibliographie

1. La Tyrosinémie de type 1 est une maladie génétique rare (1 cas sur 100.000 sauf dans certaines régions du nord de l'Europe et de l'Amérique où elle est plus fréquente) qui tient au déficit de la fumarylacétoacétate hydrolase, une enzyme qui intervient dans la dégradation de la tyrosine.
2. B. Jordan. CRISPR-Cas9, une nouvelle donne pour la thérapie génique. Médecine/sciences 2015; 31: 1035-1038
3. Un plasmide est un ADN circulaire, essentiellement d'origine bactérienne, capable de se répliquer de façon autonome. C'est un ADN qui n'est pas essentiel à la cellule qui le contient.
4. Le nucléotide est le composant de base de l'ADN qui en compte 3 milliards sur chacun de ses deux filaments. Il comporte trois éléments: un sucre cyclique (le désoxyribose), un groupement phosphate (PO_3^-) et une base. Seule variable d'un nucléotide à l'autre, la base connaît quatre variantes dans l'ADN: l'adénine, la cytosine, la guanine et la thymine.
5. Le noyau de toute cellule d'un organisme multicellulaire contient une « bibliothèque » complète codée (ADN) de tout ce qu'une cellule peut être amenée à fabriquer. Une page utilisée est « copiée » sur un support ARN « de transfert » pour être envoyée vers les organites fabriques du cytoplasme de la cellule.
6. Cas 9 est une enzyme de type nucléase dont l'acronyme signifie CRISPR-associated protein 9.
7. CASPR signifie clustered, regularly interspersed palindromic repeats ou, en français, répétition en amas (groupés ou en grappe) de type palindrome répartis de façon régulière.
8. J-P Tremblay. CRISPR, un système qui permet de corriger ou de modifier l'expression de gènes responsables de maladies héréditaires. Médecine/sciences 2015; 31: 1014-1032
9. IM Slaymaker, L Gao, B Zetsche et al. Rationally engineered Cas9 nucleases with improved specificity. Science 2016; 351: 84-88
10. BP Kleinstiver, V Pattanayak, MS Prew et al. High-fidelity CRISPR-Cas9 nucleases with no detectable genome-wide off-target effects. Nature, 2016; 529: 490-495
11. C Long, L Amoasii, AA Mireault et al. Postnatal genome editing partially restores dystrophin expression in a mouse model of muscular dystrophy. Science 2016; 351: 400-403
12. M Taberbordbar, K Zhu, JKW Cheng et al. In vivo gene editing in dystrophic mouse muscle and muscle stem cells. Science 2016; 351: 407-410
13. <http://www.nature.com/news/chinese-scientists-genetically-modify-human-embryos-1.17378>
14. P Liang, Y Xu, X Zhang et al. CRISPR/Cas9-mediated gene editing in human triploid zygotes. Protein & Cell, 2015, 6(5): 363-372
15. J Kaiser, D Normile. Embryo engineering study splits scientific community. Science, 2015; 348: 486-487
16. DJH Mathews, R Lovell-Badge, S Chan et al. A path through the ticket. Nature 2015; 527: 159-161
17. E Lanphier, F Urnov, SE Haecker et al. Don't edit the human germ line. Nature, 2015; 519: 410-411
18. R Isasi, E Klaiderman & BM Knoppers. Editing policy to fit the genome ? Framing genome editing policy requires setting thresholds of acceptability. Science 2016; 351: 337-339
19. Le protocole mis en place par le professeur Alain Fischer de Paris a été revu depuis et semble offrir de meilleures garanties

Dossier réalisé par Jean-Michel Debry