



CRISPR-Cas9

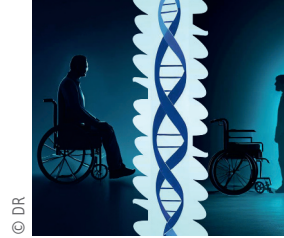
Une stratégie thérapeutique pour les laminopathies ?

Résumé

Les dystrophies musculaires liées au gène *LMNA* sont des maladies autosomiques dominantes progressives. Les mutations faux-sens peuvent y être corrigées grâce aux outils développés pour l'édition génomique, comme le système CRISPR/Cas9. L'évaluation fonctionnelle de l'efficacité de la correction d'une telle mutation reste complexe car aucune perte de fonction de la protéine n'est observée dans les cellules de patients. Les protéines codées par le gène *LMNA*, les lamines A et C, sont des protéines majeures et ubiquitaires de l'enveloppe nucléaire mais ne sont pas spontanément exprimées dans les cellules souches pluripotentes (iPSC). Wang *et al.* [1] ont induit l'expression des lamines A/C dans des cellules souches pluripotentes (iPSC) dérivées de deux patients. Ceux-ci présentaient une dystrophie musculaire liée au gène *LMNA* avec deux variants distincts : c.1366A>G, p.(Asn456Asp) et c.1494G>T, p.(Trp498Cys). Il s'agissait en l'occurrence d'un bref protocole de différenciation par ajout de sérum. Les profils d'expression de gènes co-régulés avec le gène *LMNA* ont ensuite été analysés, tels *COL1A2* et *S100A6*. L'édition précise de la mutation *LMNA* c.1366A>G a été réalisée à l'aide d'un outil dérivé de l'éditeur de base cytosine (*Cytosine Base Editor*, CBE), une version modifiée du système CRISPR-Cas9 classique. La mutation a pu être corrigée avec une efficacité de 100 % dans des clones iPSC dérivés de cellules de patients. Le protocole de différenciation rapide a permis d'avoir un marqueur fonctionnel et de démontrer ainsi l'augmentation de l'expression des lamines A/C et de la normalisation de l'expression des gènes co-régulés.

Commentaire

Le système CRISPR/Cas9 est une technique de pointe qui permet de modifier précisément le génome. Ce système est à l'origine de nombreuses stratégies thérapeutiques y compris pour les dystrophies musculaires



© DR

Sorbonne Université, Inserm,
Institut de Myologie,
Centre de Recherche en Myologie,
Paris, France.

louise.benarroch@inserm.fr

[2]. Ce système est en partie basé sur la reconnaissance par l'enzyme cas9 d'une séquence spécifique appelée PAM (*3'Protospacer Adjacent Motif*), située en aval de la séquence cible, permettant à l'enzyme de couper l'ADN et d'initier le mécanisme de réparation. Cette séquence PAM doit se situer directement après la séquence cible et le motif le plus couramment utilisé est le motif 5'-NGG-3' (où N = A, C, G ou T), limitant fortement l'application de ce système. Pour se libérer de cette contrainte, Wang *et al* ont utilisé une Cas9 modifiée qui reconnaît deux types de motifs 5'-NYN-3'/5'-NRN-3' (où Y = C ou T ; R = A ou T), appelée « *near-PAMless cytosine base editor* » [3]. Cette modification permet d'étendre le champ d'application à la presque totalité du génome en reconnaissant plus de séquences. Dans l'étude présentée, les auteurs ont testé cet outil dans les laminopathies et ont montré son efficacité sur des cellules souches pluripotentes issues d'un patient porteur d'une mutation faux-sens dans le gène *LMNA*. Ils ont réussi à corriger la mutation *LMNA* c.1366A>G dans l'ensemble des clones générés, aboutissant à une restauration partielle de l'expression des gènes *LMNA* et *S100A6*, un gène co-régulé avec le gène *LMNA* pendant le développement. Grâce à cette stratégie, les auteurs estiment pouvoir corriger 40 % des mutations faux-sens des dystrophies musculaires liées au gène *LMNA*. ♦

CRISPR-Cas9: A therapeutic strategy for laminopathies?

RÉFÉRENCES

1. Wang H, Krause A, Escobar H, *et al.* *LMNA* co-regulated gene expression as a suitable readout after precise gene correction. *Int J Mol Sci* 2022 ; 23 : 15525.
2. Fatehi S, Marks RM, Rok MJ, *et al.* Advances in CRISPR/Cas9 genome editing for the treatment of muscular dystrophies. *Hum Gene Ther* 2023 ; 34 : 388-403.9.
3. Walton RT, Christie KA, Whittaker MN, *et al.* Unconstrained genome targeting with near-PAMless engineered CRISPR-Cas9 variants. *Science* 2020 ; 368 : 290-6.

LIENS D'INTÉRÊT

L'auteure déclare n'avoir aucun lien d'intérêt concernant les données publiées dans cet article.

TIRÉS À PART

L. Benarroch