

# Virus recombinants et virus synthétiques

L'émergence de la biologie moléculaire et des technologies associées, qui ont constitué le terreau à partir duquel ont pu se structurer les prémices de la biologie de synthèse, est intimement liée à l'histoire de la virologie. Même si la biologie de synthèse ne s'est répandue dans la communauté scientifique qu'à partir des années 2000, l'ingénierie biologique a fait ses premières armes avec, et sur les virus, dès les années 1960. Aujourd'hui, les nombreux outils techniques à la disposition non seulement de la communauté scientifique, mais également de biologistes amateurs, qui structurent un nouvel espace d'échange libre (une sorte d'*open source* biologique) et qui sont de plus d'un coût dérisoire, permettent de manipuler des virus existants, d'en créer de nouveaux, voire de faire « revivre » des virus disparus. Ces manipulations s'inscrivent souvent dans le cadre d'applications thérapeutiques, ou plus simplement participe à une meilleure compréhension du vivant. Au-delà des applications porteuses de promesses, ces nouveaux possibles soulèvent de nombreuses questions qui doivent être intégrées dans un dialogue sociétal permettant de prendre toute la mesure des enjeux, des implications et des risques associés.

Par **Ali SAÏB\***

---

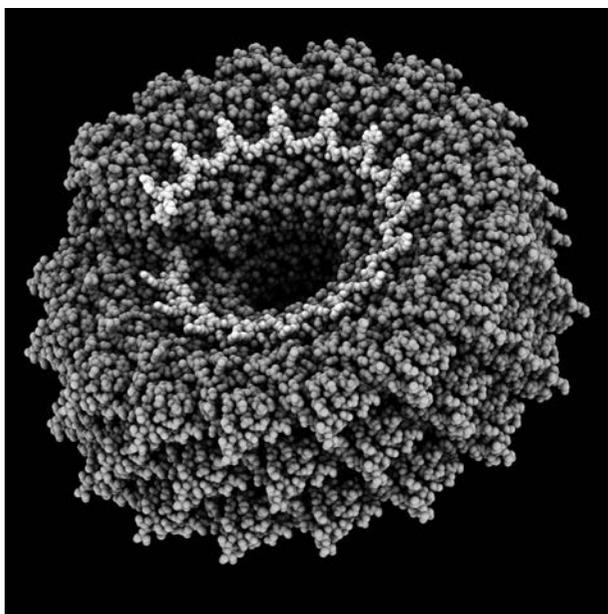
\* Recteur de l'Académie de Caen, professeur titulaire de la chaire de biologie du CNAM, directeur de la recherche du CNAM (2009-2012), coordinateur de l'Observatoire de la biologie de synthèse.

**Encadré 1**

La biologie de synthèse désigne un champ scientifique expérimental interdisciplinaire aux contours et aux objets en évolution qui allie, en particulier, les techniques de génie génétique, la chimie, les sciences de l'ingénieur et l'informatique. Cette ingénierie en biologie vise plusieurs objectifs, dont celui de créer (partiellement ou totalement) et/ou de réorienter des systèmes biologiques à des fins utilitaires ou en vue d'une meilleure compréhension du vivant et de ses origines.

Pour comprendre pourquoi les virus ont été des entités biologiques clés dans l'émergence de la biologie moléculaire et de la biologie de synthèse, il est essentiel de remonter le cours de l'histoire. La découverte du premier virus (le virus de la mosaïque du tabac, le VMT) par Martinus Willem Beijerinck, ingénieur chimiste et père conceptuel de la virologie, à la fin du XIX<sup>e</sup> siècle, laisse la communauté scientifique sceptique. Ce n'est que quarante ans plus tard que les pre-

miers clichés obtenus par la microscopie électronique, une technique alors émergente, confirmaient l'existence des virus. On y voyait des particules de taille allant de 20 à 100 nanomètres (nm). Mais restait encore à découvrir la nature des virus. C'est là encore un chimiste, Wendell Stanley, qui permit pour la première fois d'avoir une idée de la nature d'un virus. En obtenant le premier cristal protéique du virus VMT en 1935 – cristal qui conservait les propriétés infectieuses du virus – Stanley conclut que le virus VMT est un simple assemblage protéique doté d'une activité catalytique. Ce travail lui a valu le Prix Nobel de Chimie en 1946, et non celui de Médecine et de Physiologie. Même si certaines conclusions furent infirmées par la suite (il a été rapidement démontré qu'un virus était constitué à la fois de protéines et d'acides nucléiques), les études en microscopie électronique et ce Prix Nobel ont conduit à considérer durablement les virus comme des entités particulières proches de l'inerte, comme de simples assemblages moléculaires reliant la chimie à la biologie. À cette époque, la structure des gènes était encore inconnue. Les généticiens les considéraient comme des entités purement théoriques, des unités algé-



© BIOSPHOTO-LAGUNA DESIGN-SCIENCE PHOTO LIBRARY

« La découverte du premier virus (le virus de la mosaïque du tabac, le VMT) par Martinus Willem Beijerinck, ingénieur chimiste et père conceptuel de la virologie, à la fin du XIX<sup>e</sup> siècle, laisse la communauté scientifique sceptique. », virus de la mosaïque du tabac.



© Jacques Boyer/ROGER-VIOLETT

« En 1935, Stanley conclut que le virus VMT est un simple assemblage protéique doté d'une activité catalytique. Ce travail lui a valu le Prix Nobel de Chimie en 1946, et non celui de Médecine et de Physiologie. », portrait de Wendell Meredith Stanley (1904-1971), biochimiste américain, Prix Nobel de Chimie en 1946.

briques, sans en connaître le support matériel. Leur caractère moléculaire était loin de faire l'unanimité. C'est une série de découvertes réalisées entre les années 1940 et 1970 et issues en partie du travail de convergence de médecins, de biologistes, de chimistes et de physiciens qui considéraient le virus comme un « gène pur », et donc comme un modèle de choix pour l'étude du vivant sous sa forme la plus simple, qui ont jeté les bases de la biologie moderne, en particulier de la biologie moléculaire. C'était le cas, notamment, du « groupe du phage » coordonné par Salvador Luria et Max Delbrück, ce dernier étant un physicien qui avait orienté ses travaux vers la biologie afin de comprendre les fondements du vivant. La mise à nu de la structure de l'ADN par Watson et Crick et le décryptage du code génétique ont ouvert la voie au développement des techniques de l'ADN recombinant, qui permettent de manipuler le patrimoine génétique à volonté et de créer en laboratoire de nouveaux génomes issus d'organismes totalement différents (le code génétique étant universel). Les pionniers de la biologie moléculaire étaient persuadés d'avoir percé le secret de la vie en ayant découvert l'ADN et le code génétique. Le gène devenait dès lors le déterminant majeur du vivant et, pour certains, « l'essence même de la vie ». C'est donc tout naturellement que les virus, avec leur patrimoine génétique de taille réduite (quelques milliers de nucléotides pour une grande majorité d'entre eux) et le rôle qu'ils ont joué dans la découverte des principes fondateurs de la biologie moléculaire, devinrent les modèles d'étude et d'expérimentation les plus répandus dans les laboratoires académiques, ce qui a conduit à la « création/construction » d'une multitude de virus recombinants, principalement à des fins de recherche fondamentale.

### Encadré 2

Au croisement de la génétique, de la biochimie et de la physique, la biologie moléculaire vise à comprendre les mécanismes de fonctionnement de la cellule au niveau moléculaire. Elle s'attache en particulier à étudier les molécules porteuses de l'information génétique (ADN et ARN), les protéines produites à partir des gènes et la relation existant entre ces trois types de molécules.

Très rapidement, l'idée est venue d'assembler artificiellement des fragments d'ADN issus de différents organismes, comme par exemple des fragments d'ADN bactériens ou humains, tout d'abord pour s'assurer de l'universalité du code génétique, puis en vue d'utiliser ces nouveaux ADN recombinants dans le cadre de diverses applications. C'est ainsi que le concept de thérapie génique a émergé.

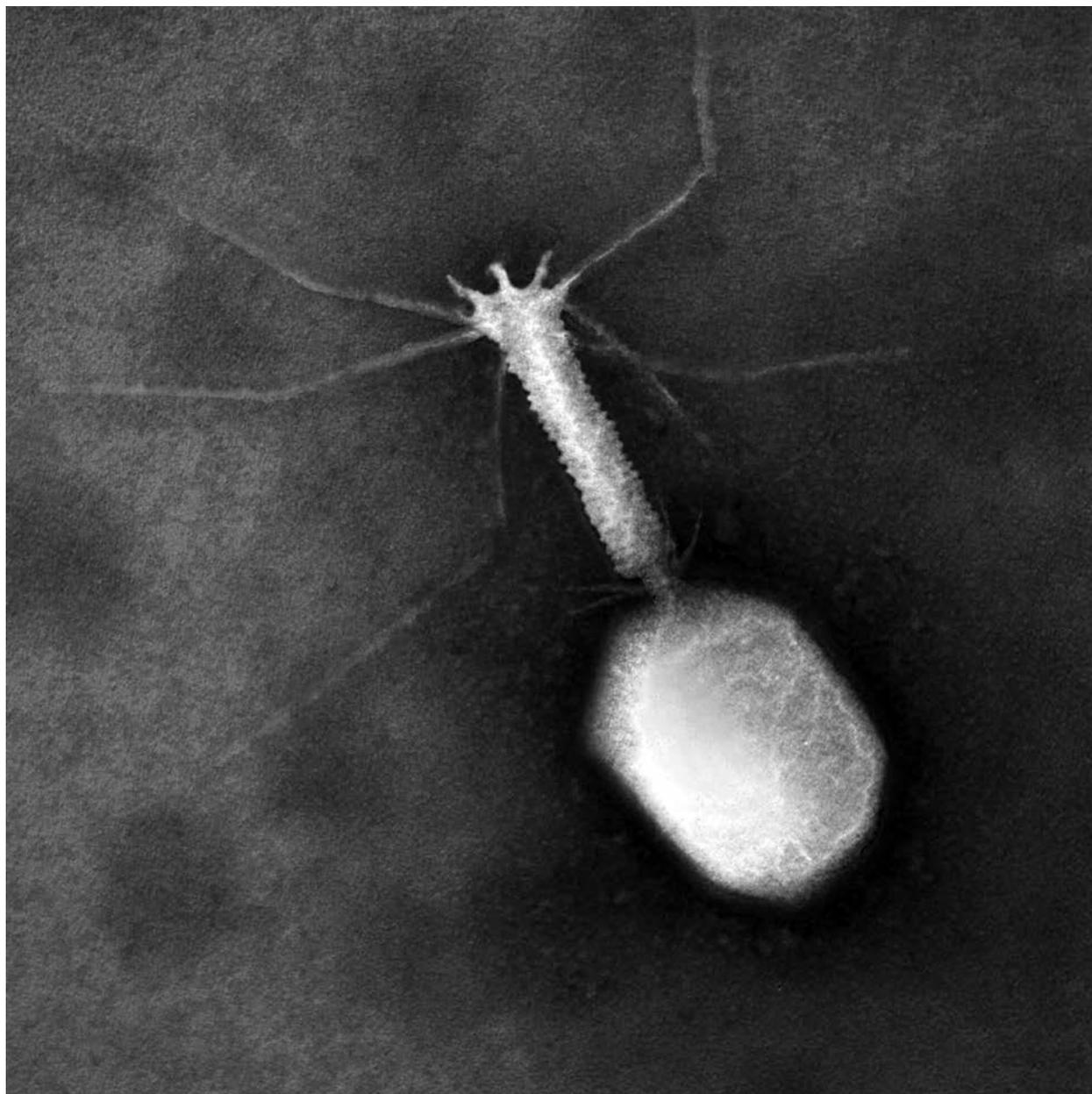
Considérée depuis plus de trente ans comme une approche thérapeutique prometteuse, la thérapie

génique a pour principe fondateur la correction d'une fonction cellulaire perdue ou altérée du fait d'une mutation génétique par l'apport d'une copie non modifiée du gène sain la générant. Il existe cependant une grande diversité des applications possibles qui dépassent le cadre du traitement de la maladie génétique. Si, en théorie, cela peut sembler aisé à réaliser, la pratique s'avère difficile à mettre en œuvre, car plusieurs conditions doivent être réunies pour espérer une amélioration clinique, comme par exemple le statut monogénique du caractère à corriger, ou encore l'efficacité du gène correcteur qui sera implanté dans les cellules qui en ont besoin. Pour cela, les virus ont très rapidement été perçus comme des « outils » de choix. En effet, la coévolution des virus et de leur cellule hôte pendant des milliers d'années a conduit à faire de ces entités biologiques d'excellents chevaux de Troie, franchissant aisément les barrières physiques pour transporter leur patrimoine génétique au sein d'un environnement cellulaire qui leur fournit toute la « machinerie » nécessaire à leur multiplication. Il suffisait alors de modifier à façon le patrimoine génétique d'un virus (pour lui enlever tout caractère délétère et y incorporer le gène « médicament ») et/ou de modifier les caractéristiques de surface de celui-ci (afin d'orienter son tropisme cellulaire, par exemple) pour en faire un virus recombinant doué des propriétés qui en font un vecteur efficace. Plusieurs types de virus ont ainsi été manipulés à des fins thérapeutiques (adénovirus, rétrovirus, herpesvirus, parvovirus...).

En 2000, trente ans après les prémices de ce concept, un communiqué de presse annonçait le premier succès de thérapie génique grâce à l'utilisation d'un rétrovirus murin. Une équipe de chercheurs français était parvenue à guérir des enfants atteints d'un déficit immunitaire grave qui les obligeait à rester confinés dans des enceintes totalement stériles. Même si des effets adverses graves stoppèrent temporairement les essais cliniques, une nouvelle génération de virus et des protocoles thérapeutiques modifiés allaient conduire à de nouveaux succès dans le traitement d'autres maladies génétiques.

Depuis quelques années, l'attention des scientifiques s'est également concentrée sur certains virus qui possèdent d'étonnantes propriétés. En effet, ces virus se multiplient préférentiellement dans les cellules tumorales conduisant à leur destruction ; on les appelle des virus oncolytiques. C'est le cas, par exemple, de certains parvovirus ou de certains adénovirus. Par les mêmes approches d'ADN recombinant décrites plus haut, il est possible de modifier ces virus pour les rendre plus spécifiques vis-à-vis des cellules tumorales et plus efficaces dans leur fonction destructrice.

De la même manière, il est possible d'utiliser des virus naturels ou recombinants pour détruire plus spécifiquement certaines bactéries pathogènes. Ces virus appelés bactériophages (ou tout simplement phages) sont actuellement utilisés pour traiter certaines infections bactériennes multi-résistantes.



© BIOSPHOTO-AMI IMAGES-SCIENCE PHOTO LIBRARY

« Il est possible d'utiliser des virus naturels ou recombinants pour détruire plus spécifiquement certaines bactéries pathogènes. Ces virus appelés bactériophages (ou tout simplement phages) sont actuellement utilisés pour traiter certaines infections bactériennes multi-résistantes. », virus bactériophage ciblant la bactérie Escherichia Coli.

D'autres applications sont possibles dans le domaine de la santé, comme en vaccinologie. Le principe est de modifier la structure génétique d'un virus donné (non pathogène pour l'homme) afin qu'il se mette à exprimer des antigènes spécifiques d'un autre virus (ou de cellules tumorales), qui activeront à leur tour le système immunitaire pour assurer une meilleure action anti-infectieuse (ou anti-tumorale).

Les progrès réalisés dans le séquençage de l'ADN, l'amélioration considérable des techniques de synthèse d'ADN ainsi que leur coût de plus en plus accessible ont révolutionné l'étude des génomes et leur manipulation depuis les années 1990. Et comme dans

le cas de l'émergence de la biologie moléculaire, la taille réduite du patrimoine génétique des virus et la rapidité avec laquelle ils se multiplient en ont fait les premiers « cobayes » pour être entièrement synthétisés. En 2002, l'équipe d'Eckard Wimmer synthétise entièrement un poliovirus constitué de 7 741 nucléotides qui, placé au sein d'une cellule, a conduit à la production de virus infectieux. Techniquement, il s'agit de synthétiser chimiquement le patrimoine génétique d'un virus, puis de l'insérer au sein d'une cellule hôte (par des techniques simples) afin que la machinerie cellulaire se mette au service du « programme » génétique viral pour le multiplier. Cette

publication faisait suite à un travail précédent de la même équipe, publié dix ans plus tôt, qui décrivait le poliovirus par une simple formule chimique :  $C_{332}H_{492}N_{98}O_{131}P_7S_2$  (le chiffre en indice correspondant au nombre de chaque atome). Cette avancée technique fut suivie, un an plus tard, par la synthèse d'un phage par l'équipe de John Craig Venter. Dans la foulée, en 2008, cette même équipe a réussi la synthèse d'un génome bactérien (381 gènes, sur 580 000 paires de bases) ayant la capacité de se multiplier lorsqu'il est placé dans un environnement adéquat (cette nouvelle bactérie créée en laboratoire a été baptisée *Mycoplasma laboratorium*). Plus récemment, la synthèse d'un génome bactérien de 1,08 million de paires de bases a été publiée (*Mycoplasma mycoides*) ! E. Wimmer et J.C. Venter ne sont pas les premiers scientifiques à avoir ainsi « créé » artificiellement un virus. Dans les années 1950, Arthur Kornberg, Prix Nobel de Médecine et de Physiologie en 1959, défrayait la chronique pour avoir synthétisé par des approches plus rudimentaires le premier phage en laboratoire. Les journaux américains titraient alors : « On a créé la vie dans un tube à essai ! », alors que le président Lyndon Johnson en personne qualifiait cette découverte de « réalisation remarquable ». Mais cette aventure ne faisait que commencer.

Contrairement à ce qui avait été énoncé, J.C. Venter n'a pas créé la vie en laboratoire, mais il a synthétisé un patrimoine génétique à façon qui a pu prendre les « commandes » d'une bactérie qui a été préalablement dépouillée de son propre génome. Les outils techniques que nous possédons aujourd'hui ne nous permettent pas encore de « créer » la vie en laboratoire, mais ils nous permettent d'agencer différemment les briques élémentaires du vivant à la manière d'un jeu de LEGO® pour créer de nouvelles entités vivantes autonomes. Après le réductionnisme biologique, utile initialement pour appréhender le vivant (mais dont on sait aujourd'hui qu'il ne permet pas de l'aborder dans toute sa complexité), nous entrons dans une phase de mécanisation du vivant. Mais tout n'est pas si simple, puisqu'en réaction se développe une nouvelle branche de la biologie, appelée biologie des systèmes, qui tente d'aborder les questions biologiques de manière holistique.

Grâce à ces progrès techniques, toutes les applications avérées ou envisagées mettant en œuvre des virus recombinants sont aisément déclinées *via* les versions synthétiques virales. La nouveauté réside dans le fait qu'il est maintenant techniquement possible de recréer de toutes pièces des virus pathogènes ayant existé par le passé mais totalement disparus, ou encore de créer de nouveaux virus. Les chercheurs à l'origine de ces travaux précisent que cela servira à mieux comprendre l'évolution des maladies virales et leur transmission face au développement des zoonoses. En 2005, ces avancées technologiques ont permis de

« ressusciter » un des virus les plus dévastateurs de l'histoire humaine, celui de la grippe espagnole, lequel a été reconstitué à partir d'un morceau de poumon d'un cadavre congelé retrouvé dans le Grand Nord canadien. Cette publication a donné lieu à un intense débat éthique parmi les scientifiques, débat qui s'est répété début 2012 conduisant à un moratoire sur la publication de deux articles de recherche explicitant la procédure à suivre pour créer un virus grippal potentiellement hautement pathogène pour l'homme. Rappelons qu'un tel débat avait déjà eu lieu en 1975 lors d'une conférence organisée par Paul Berg à l'*Asilomar State Beach* (qualifiée par certains de « conférence de la boîte de Pandore »), qui avait regroupé des médecins, des biologistes et des juristes sur la position à tenir face aux potentialités offertes par les techniques émergentes de l'ADN recombinant.

La santé n'est pas le seul terrain ciblé par l'utilisation de virus synthétiques. De par leur petite taille, leur structure et leurs propriétés d'auto-assemblage, certains chercheurs n'hésitent pas à qualifier les virus de « nano-objets naturels », faisant d'eux des outils privilégiés reliant les biotechnologies aux nanotechnologies. Ainsi, la mise au point de batteries électriques à base de protéines virales (pour les objets nomades, civils ou militaires) ou encore l'utilisation de virus comme matrice pour la fabrication de nanoconducteurs, de nanocapsules (transportant des principes actifs) ou de puces biocatalytiques sont autant d'applications qui sont en cours d'évaluation.

## CONCLUSIONS ET PERSPECTIVES

L'objectif du projet de consortium international HUGO (*HUMAN Genome Organisation*) initié au milieu des années 1980 était d'établir la séquence du patrimoine génétique de l'homme pour tenter, entre autres, d'appréhender à travers les gènes la nature humaine. Nous connaissons aujourd'hui la séquence totale du génome humain, c'est-à-dire l'enchaînement complet des quatre « lettres » qui composent notre génome [les quatre bases : l'adénine, la guanine, la cytosine et la thymine, ndlr]. Mais nous ne sommes pas pour autant en mesure de comprendre avec précision le développement et le fonctionnement de notre organisme. Les gènes ne constituent qu'une partie d'un système plus vaste, qui contrôle le développement d'un organisme vivant. Les gènes collaborent entre eux, se régulent mutuellement et peuvent fonctionner en réseau ; les parties non codantes du patrimoine génétique jouent également un rôle majeur dans la régulation de l'expression des gènes, comme viennent de le démontrer les premiers résultats du projet international ENCODE (*Encyclopedia of DNA Element*) lancé en 2003. De plus, les aspects épigéné-

tiques, héréditaires pour certains d'entre eux, ainsi que l'environnement, jouent également un rôle dans le devenir d'un organisme. Il est vrai que l'erreur des biologistes moléculaires de la première heure a été de confondre *codage* et *programme*. L'ADN porte bien un code : les séquences sont traduites en acides aminés par l'intermédiaire du code génétique. Mais il ne constitue pas un programme.

De la même manière, définir les virus uniquement par leur stade particulaire (comme imposé par les clichés de microscopie électronique) ou par leur nature uniquement chimique (représentation issue des premières études de leur composition), en mettant de côté l'ensemble du cycle infectieux, qui passe par une étape cellulaire (pouvant aller jusqu'à l'intégration physique du patrimoine génétique viral dans celui de la cellule) au cours de laquelle des milliers d'interactions prennent place et qui se poursuit par un ensemble complexe d'autres interactions au niveau d'un organisme ou de toute une population (on parle alors d'écologie virale), procède d'une vision très réductionniste de ces entités biologiques. L'étude des génomes et de leur évolution a permis de préciser le rôle des virus non seulement dans les transferts génétiques horizontaux, et ce dans l'ensemble des trois règnes du vivant (eucaryotes, archées et bactéries) au cours de l'évolution, mais également dans la plasticité des génomes des organismes.

Une des caractéristiques fondamentales du vivant est d'être un processus dynamique en constante évolution, pas toujours prévisible. Bien sûr, toutes les précautions sont prises pour éviter la dissémination de ces nouveaux virus. Bien sûr, les modélisations mathématiques des voies cellulaires, voire d'une cellule entière dans un écosystème donné, se développent à grands pas pour tenter de prévoir les possibles dans ce monde de relations (y compris en développant de nouveaux ordinateurs basés sur le concept d'informatique inexacte, qui intègre un certain pourcentage d'erreurs dans le calcul des processeurs).

Comme pour toute technologie émergente, la capacité à produire des virus à façon par synthèse conduit à une multitude de questions. Qu'est-ce qui est souhaitable, acceptable ? Qui décidera ? Comment évaluer les risques inhérents à ces développements ?

Il est dès lors essentiel de structurer de manière durable, par une diversité de dispositifs, un dialogue entre toutes les parties prenantes afin d'évaluer les enjeux, les implications et les risques. La responsabilité des chercheurs, des pouvoirs publics et des citoyens est engagée.

C'est dans cette perspective d'une nécessaire structuration du dialogue entre sciences, technologies et société que l'Observatoire de la biologie de synthèse (OBS) a été créé, en janvier 2012, au sein du Conservatoire national des arts et métiers (CNAM).

### Encadré 3

De tailles généralement comprises entre 20 et 400 nm, les virus, sous leur forme particulaire, sont constitués d'un acide nucléique support de l'information génétique virale (qui peut être ADN ou ARN – quelquefois ces deux types d'acide nucléique sont retrouvés dans la particule virale), protégé par une structure protéique spécifique au monde viral (appelée capsid). Tout en présentant des constituants biochimiques de base identiques, le monde des virus est extraordinairement hétérogène. Les particules virales présentent une multitude de tailles, de structures génomiques, de cycles réplicatifs, et elles sont présentes dans tous les biotopes. Contrairement à la grande majorité des bactéries, les virus sont des parasites obligatoires : ils ne se multiplient qu'au sein d'une cellule hôte. Ils ne présentent aucun métabolisme propre, l'énergie nécessaire à leur multiplication étant fournie par la cellule hôte.

L'OBS a pour mission de cartographier le paysage – français et international – (acteurs impliqués, recherches conduites, publications scientifiques...) de la biologie de synthèse et de suivre, en temps réel, les débats, les questionnements et les prises de positions suscitées par l'émergence de ce domaine scientifique aux enjeux forts, encore marqués par l'incertitude.

La mise en place de cette plateforme d'information et d'échange répond au souci du ministère de l'Enseignement supérieur et de la Recherche, mais aussi à celui des acteurs impliqués (académiques, industriels, associatifs...), de suivre l'évolution des sciences et des technologies émergentes afin de préparer, d'initier et de maintenir de manière durable un dialogue ouvert et équilibré avec toutes les composantes de la société.

Un site Internet (1) entièrement dédié à la biologie de synthèse, portail de convergence des connaissances et des questionnements, constitue le premier outil mis en place par l'OBS.

Cette première étape doit permettre, grâce à la circulation de l'information et à l'identification des acteurs et des lignes de force, de préparer la deuxième phase du processus (2), à savoir la mise en discussion de la biologie de synthèse dans le cadre d'un Forum qui sera initié en 2013.

(1) Site Internet de l'Observatoire de la biologie de synthèse : <http://biologie-synthese.cnam.fr>

(2) Ce processus s'inscrit dans le cadre des préconisations faites par l'Institut francilien recherche innovation et société (IFRIS) dans son étude « Biologie de synthèse, conditions d'une dialogue avec la société » (publiée en décembre 2011).