
Un châssis inoffensif pour la Biologie Synthétique : Est-ce une vraie question ?

Journée Scientifique de l'UFR SDV
Université Paris-Diderot
15 février 2016 Paris

Prologue

Principes de la Biologie Synthétique

Abstraction: appliquer les lois de la vie à la conception d'objets de nature physico-chimique différente (xénobiologie)

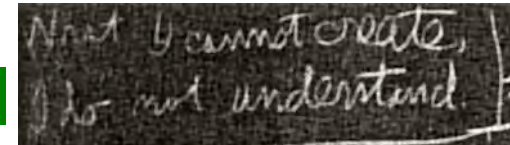
Fred Hoyle (1957) *The black cloud* William Heinemann Ltd

Construction: concevoir et standardiser des programmes exprimés dans un « châssis »

“ Design is thinking...
made visual.”
Saul Bass

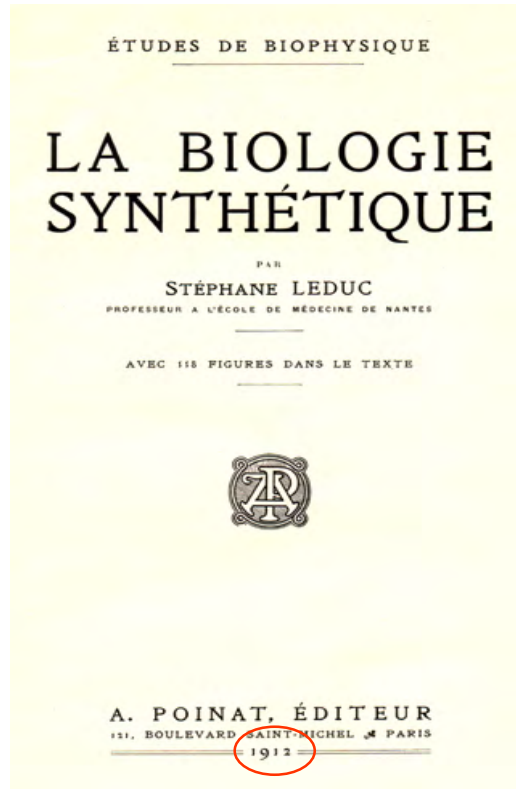
Compréhension: reconstruire la vie pour comprendre ce qu'elle est ; découvrir les entités manquantes en utilisant le raisonnement de l'ingénieur

Richard Feynman



Évolution: combiner design et évolution pour diriger l'adaptation ; ***mise en garde:** la vie est fondée sur le moyen de piéger l'information*

Sommes nous en train de réinventer la roue ?



stéphane leduc
1853 - 1939

KW Jeon, IJ Lorch, JF Danielli *Science* 1970 167: 1627-8

Reassembly of Living Cells from Dissociated Components

Abstract. Combining the techniques of nuclear transplantation and cytoplasmic transfer, dissociated amoeba nuclei, cytoplasm, and membranes were reassembled to form viable amoebae. The techniques of cell reassembly appear to be sufficiently adequate so that any desired combination of cytoplasm, nucleus, and membrane can be assembled into living cells.

IV.

Artificial Synthesis of New Life Forms

Bulletin of atomic scientists
december 1972 28: 20-24

JAMES F. DANIELLI



1911-1984

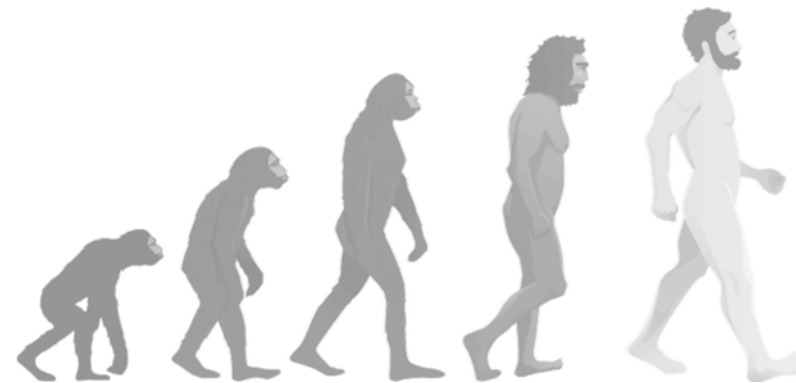
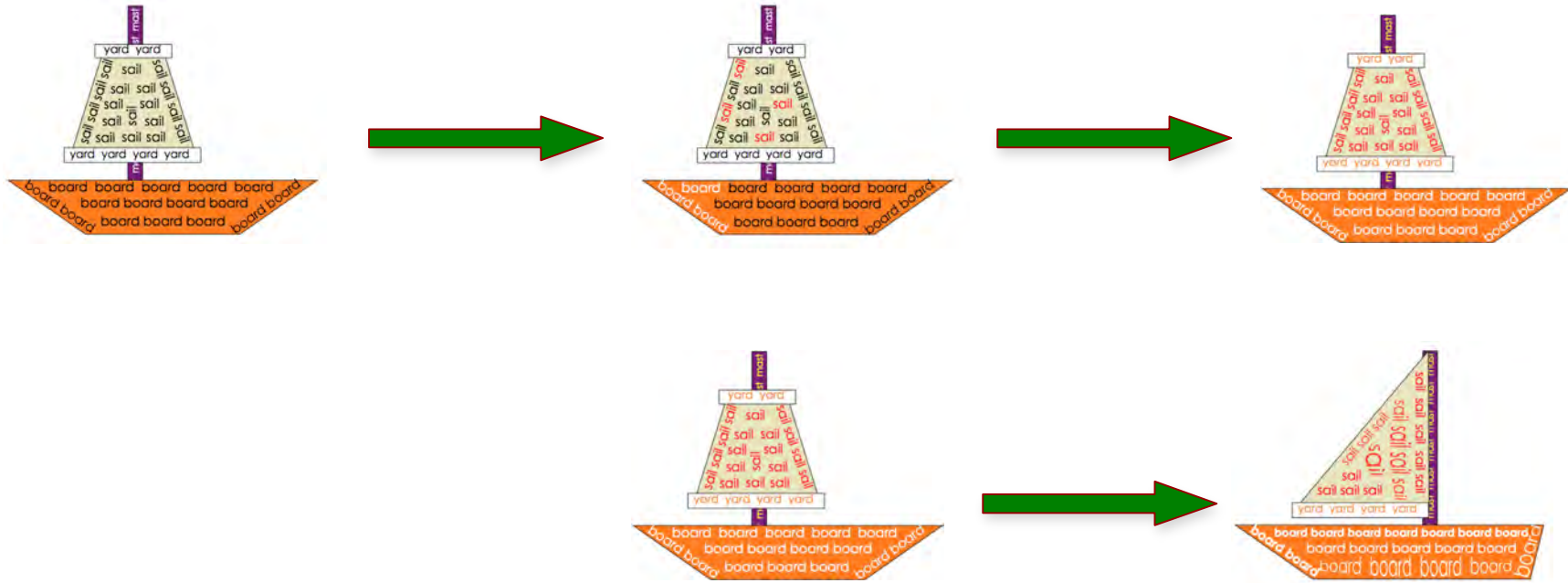
The age of synthesis is in its infancy, but is clearly discernable. In the last decade (1960-70), we have seen the first syntheses of a protein, a gene, a virus, a cell, and of allophenic mice. Nothing with such dramatic implications has ever been seen in biology before. Previously, plant and animal breeders have been able to create what are virtually new species, and have been able to do so at a rate which is of the order of 10^4 times that of average evolutionary processes. A further increase in rate is now on the horizon. We need a few additional "firsts" before this will occur: (1) to be able to synthesize a chromosome from genes and other appropriate macromolecules; (2) to be able to insert a chromosome into a cell; or, alternatively to (1) and (2), to be able (3) to insert genes into a cell in some other way; (4) we must also learn how to bring the set of genes, which is introduced into a cell, within the domain of cellular control mechanisms, so that they do not run wild in the cell. None of these problems appear to be of exceptional difficulty.

Au delà de la simple matière

*Le navire à trente rames sur lequel Thésée s'était embarqué avec les jeunes gens offerts au Minotaure, et qui le ramena victorieux à Athènes, fut conservé par les Athéniens jusqu'au temps de Démétrius de Phalère. Ils en changèrent les planches au fur et à mesure qu'elles vieillissaient, les remplaçant par des pièces neuves, plus solides. Aussi les philosophes, dans leurs discussions sur la nature du changement des choses choisirent-ils ce navire comme exemple, **les uns soutenant qu'il reste le même, les autres qu'il est différent du navire de Thésée***

Plutarque *Vies des Hommes Illustres*

Permanence et changement



Une catégorie cachée, l'information

matière / énergie / espace / temps

- physique classique
 - physique quantique
 - chimie
 - biologie
 - développement
 - neurobiologie
 - linguistique
 - mathématique (informatique)
- information ↓

Vlatko Vedral Decoding Reality
The Universe as Quantum Information
Oxford University Press 2012

« Biologie » hyper-synthétique

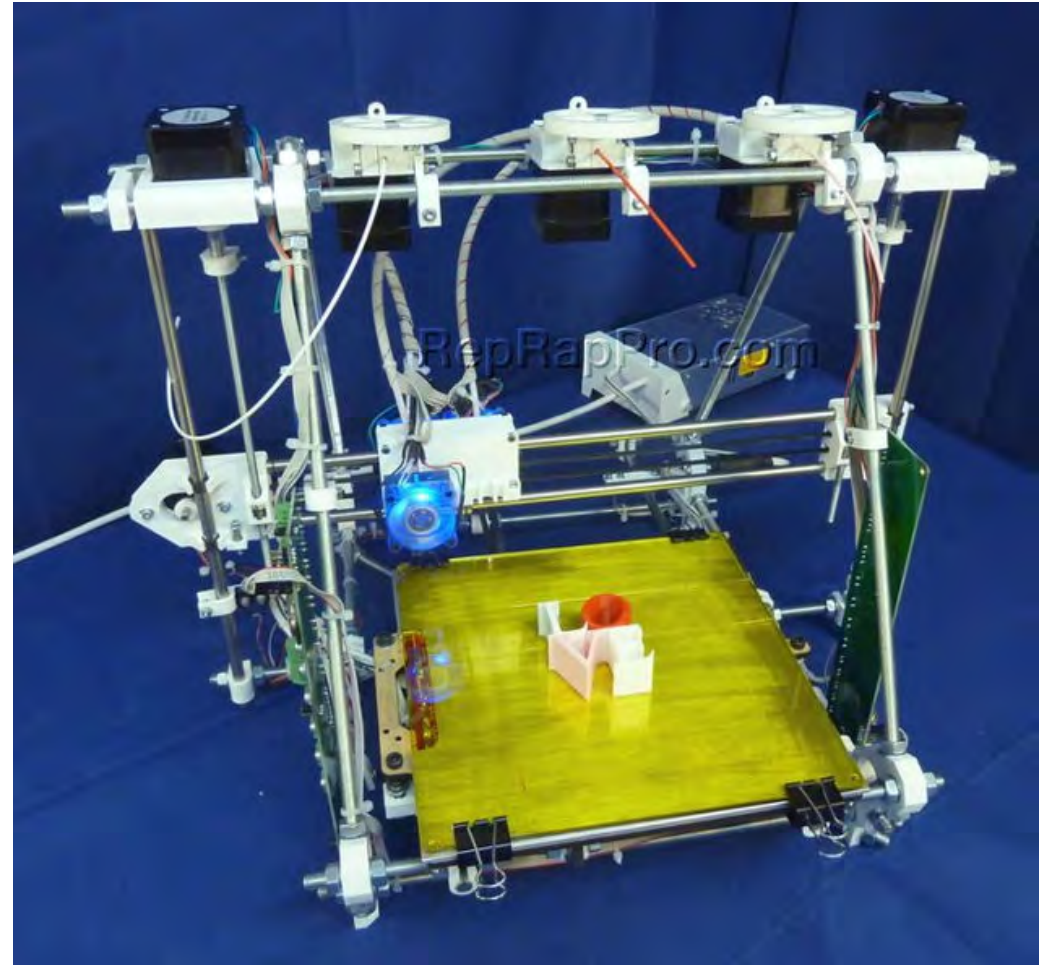
REPRAP (REplicating RAPid Prototyper, 2004) vise à créer une imprimante laser 3D auto-reproductrice :

La machine produit la plupart de ses composants (=“biobriques”)

Ce qui manque :

- programme
- ligne d'assemblage (gestion du temps et de l'espace, et fonctions spécifiques comme la lubrification)

<http://reprap.org/>



The background features a faint, artistic illustration of The Little Prince. He is depicted as a young boy with spiky blonde hair, wearing a green tunic and a red bow tie, standing on a grey, rocky planet. To his left, a large yellow sun is partially obscured by a horizontal orange line. Below the sun, a blue waterfall flows down a cliff. In the distance, another yellow sun and a small star are visible. The overall scene is set against a light yellow background.

Dessine moi une cellule

Conception par analyse fonctionnelle

Fonction de base

imprimante : imprimer des documents

Fonctions auxiliaires

fournitures : encre

papier

électricité

logiciel : gestion des tâches

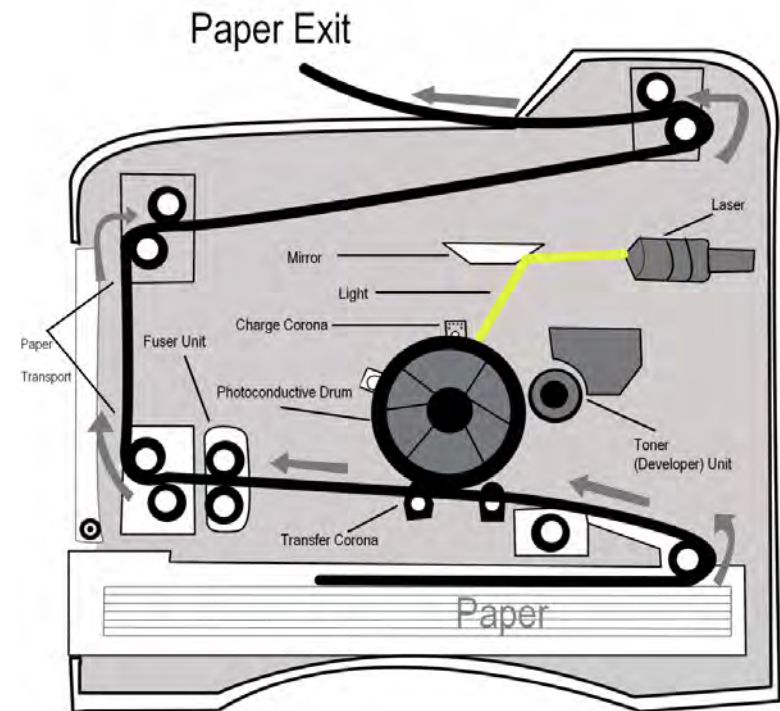
opération : laser, jet d'encre, etc

châssis : bâti (y compris esthétique)

interface homme / machine

communication: accès internet

maintenance: lubrification, remplacement des pièces usées



<http://www.photocopier.org.uk/how-printer-copiers-work>

Fonctions de la vie

Deux fonctions de base :

- produire une descendance
- explorer l'environnement (usine cellulaire)

La biologie de synthèse les combine pour un objectif particulier, produit par le concepteur

Un ordinateur faisant des ordinateurs

⇒ **Machine** ("châssis"): définissant un intérieur et un extérieur, qui **se reproduit**

et permet l'expression d'un

– **Programme** ("livre de recettes"), qui **se réplique**
(activité habituelle de la SynBio)

⇒ Processus de couplage : le **métabolisme** transfère l'information de façon **récursive** à partir du programme, et gère les flux de matière et d'énergie

Douglas Hofstadter (1979) Gödel, Escher, Bach, an Eternal Golden Braid; Basic Books, New York

Ce qu'est le calcul (pour l'homme)

La **machine** (lit et écrit) une **séquence de symboles**, divisée en :

Programme (objectif)

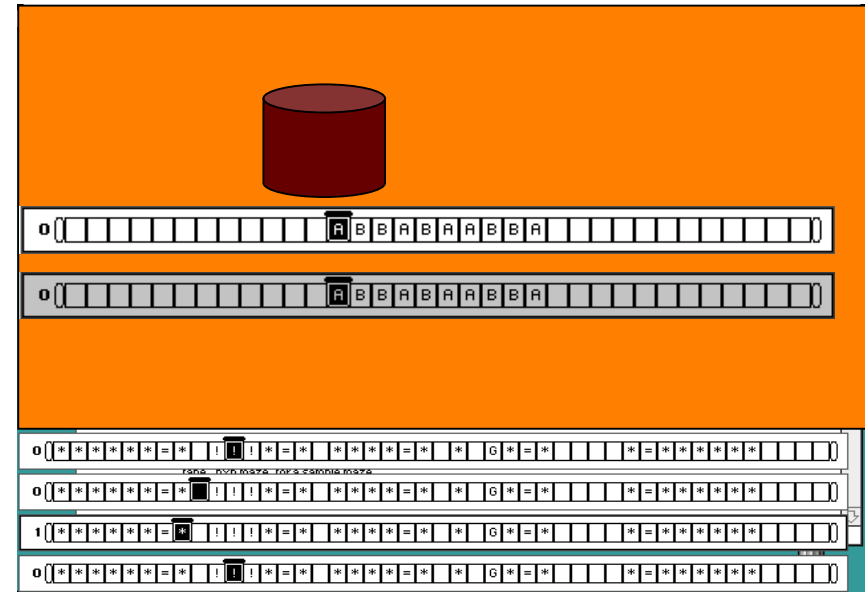
Données (contexte)

Le programme comprend :

Système d'exploitation (OS)

(gestion de l'interaction entre la machine et le programme)

Applications



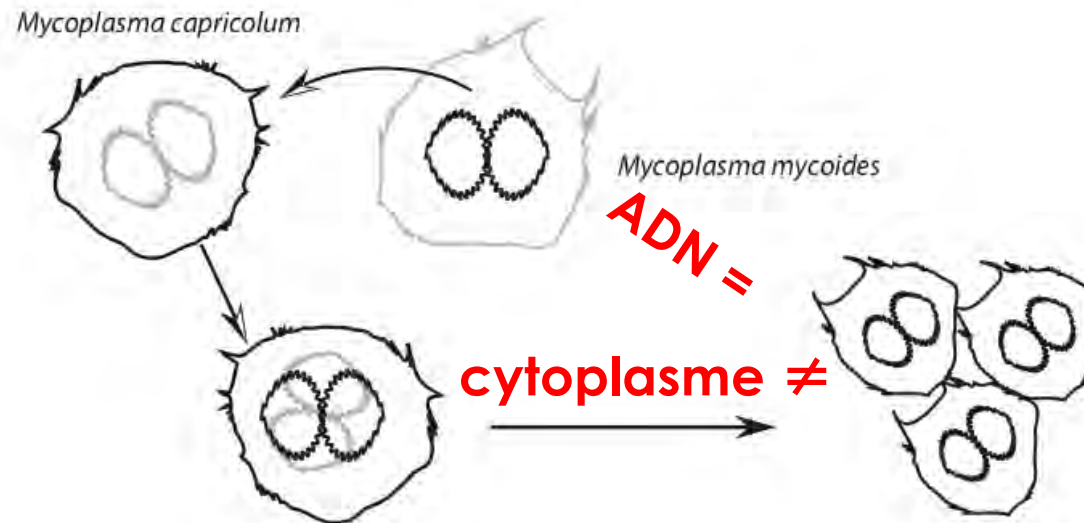
<http://mathworld.wolfram.com/TuringMachine.html>

L'exploration des concepts associés ne se soucie pas du fonctionnement de la machine

Reproduction n'est pas réplication

Le programme se **réplique** (copie exacte)

Le chassis se **reproduit** (copie approximative)



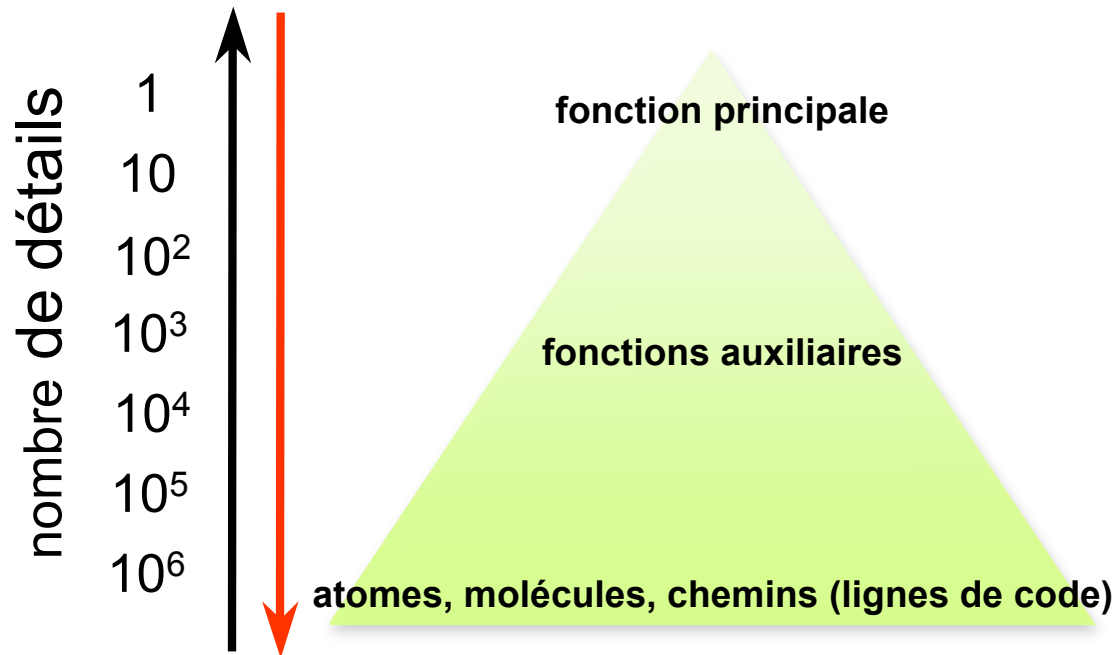
L'objectif ultime des systèmes vivants est de produire une descendance **jeune** (à partir d'un organisme vieilli)

Lartigue C, Glass JI, Alperovich N, Pieper R, Parmar PP, Hutchison CA, 3rd, Smith HO, Venter JC: Genome transplantation in bacteria: changing one species to another. *Science* 2007, 317: 632-638.

Le système d'exploitation : Chercher la persistance

Analyse fonctionnelle

descendante



les cellules (organismes)
1/ font une descendance jeune
2/ explorent leur environnement

analyse multifonctionnelle/design

niveau de référence

ascendante

Avant la fonction, la structure

Tout nouveau besoin fait apparaître de nouvelles fonctions

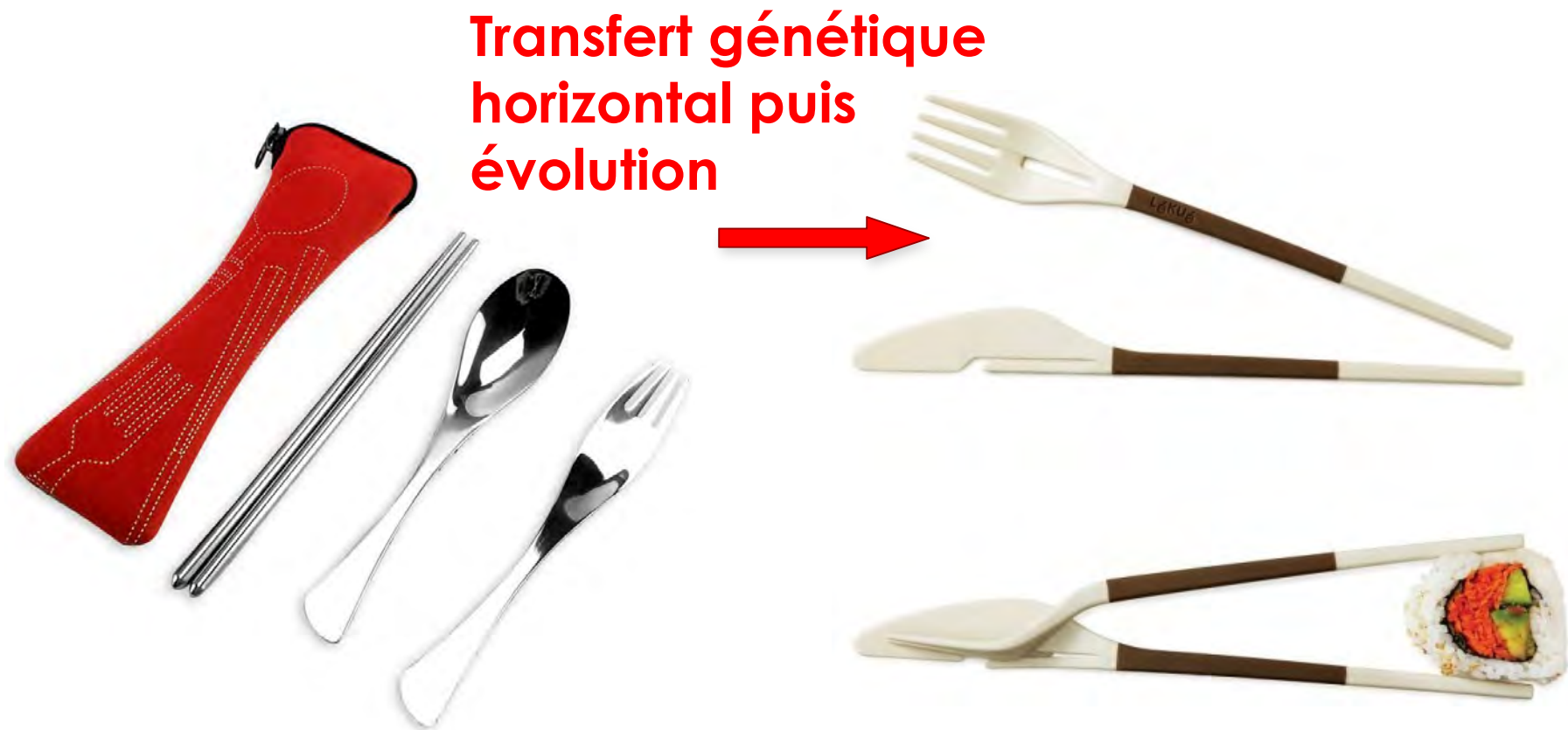
Manger sans se salir les mains suppose :

- une fourchette
- une paire de baguettes
- une grande feuille

loin de la pensée commune,
la fonction précède la structure

Analyse fonctionnelle

L'analyse fonctionnelle propose les fonctions essentielles à la vie, puis remonte l'histoire pour identifier les gènes qui pourraient les coder



Concevoir une cellule synthétique

- Machine
- Système d'exploitation
- Applications
- Châssis
- Paléome (construire une descendance)
- Cénome (explorer l'environnement)

La SynBio construit de nouvelles applications (càd étend le cénome aux applications humaines)

L Yang, [...] and BO Palsson Systems biology definition of the core proteome of metabolism and expression is consistent with high-throughput data, *Proc Natl Acad Sci USA* (2015) 112:10810-5

Comment découvrir le paléome

Les fonctions sont universelles, mais les structures varient

La cellule conserve ce qui fonctionne bien

Les fonctions sont présentes dans des gènes « persistants » qui forment le paléome

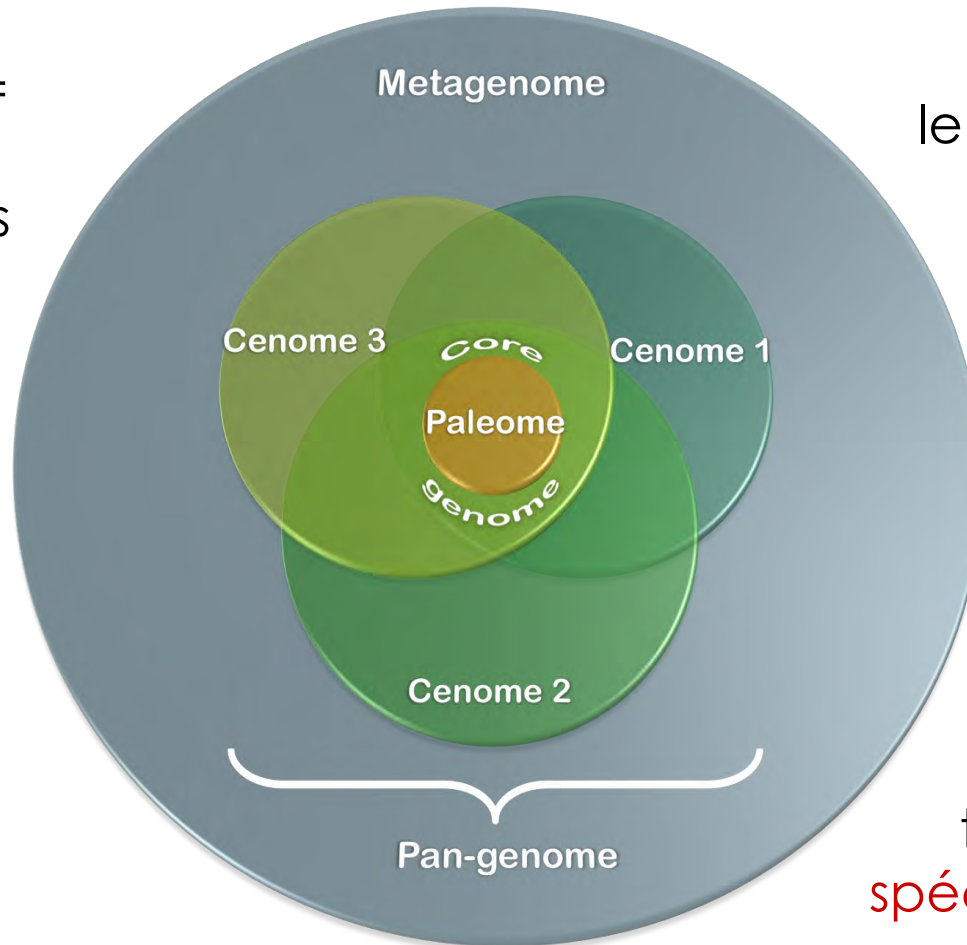
Fang G, Rocha EPC, Danchin A. How essential are nonessential genes? *Mol Biol Evol.* 2005 **22**:2147-56.

=> Remarque importante pour le génie métabolique :
Les gènes du paléome sont surtout codés dans le brin direct de la réplication

Deux groupes fonctionnels

Pan-génomique de l'**espèce** = paléome + cénome (tous les gènes autres que ceux du paléome de l'espèce)

Souche = Paléome + extrait du cénome



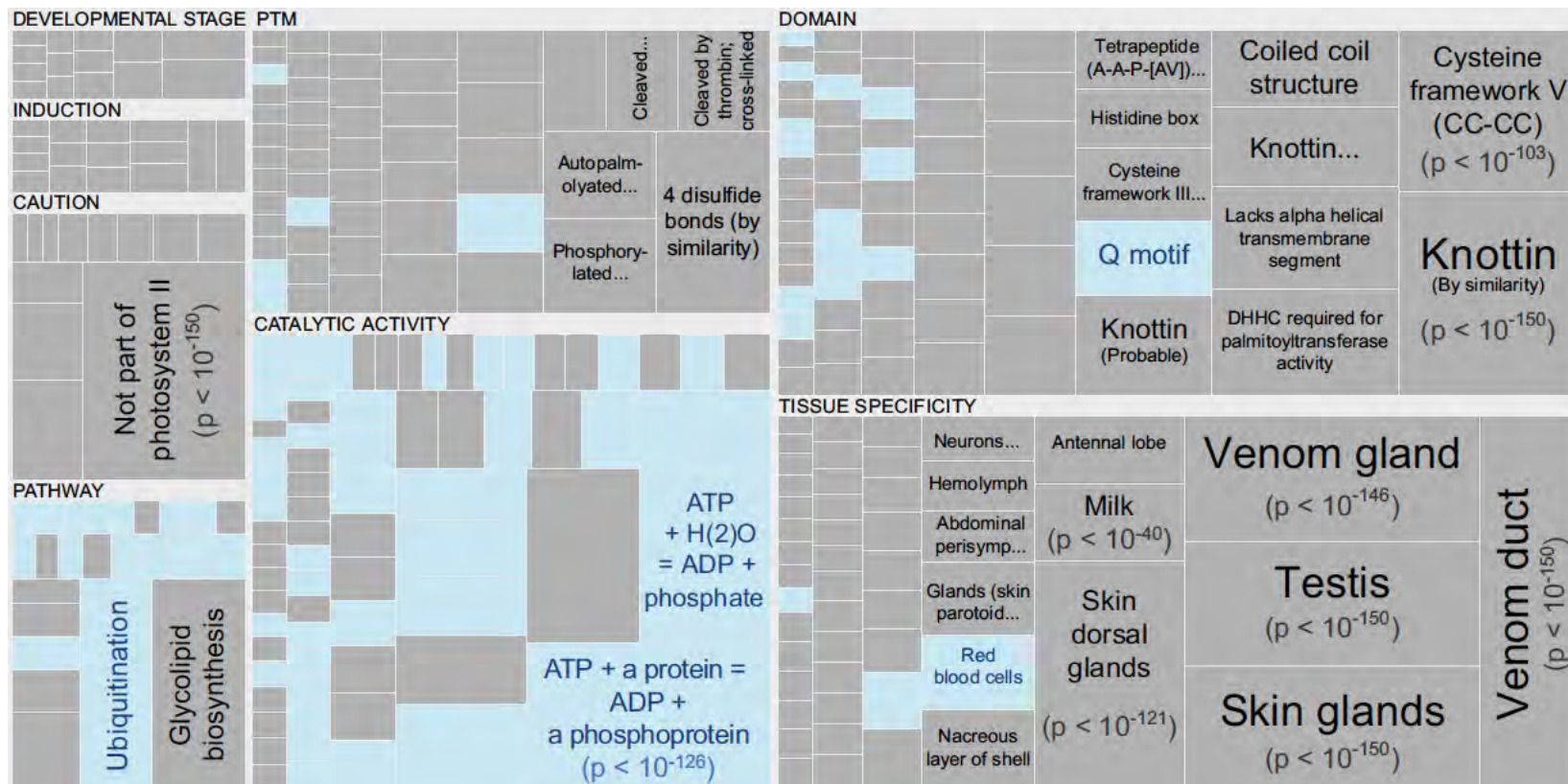
chez *E. coli*
le **paléome** (= **OS**)
~1,900 gènes,
contrôle la
reproduction

le **cénome**
(= **applications**)
> 40,000 gènes,
transmis par HGT,
spécifie l'exploration

Touchon et al. Organised genome dynamics in the *Escherichia coli* species results in highly diverse adaptive paths. *PLoS Genet.* 2009 5:e1000344.

Ce n'est pas tout ! Le protéome noir

Plus de 40% des protéines eucaryotes n'ont pas une structure 3D connue, mais pas non plus « désordonnée »



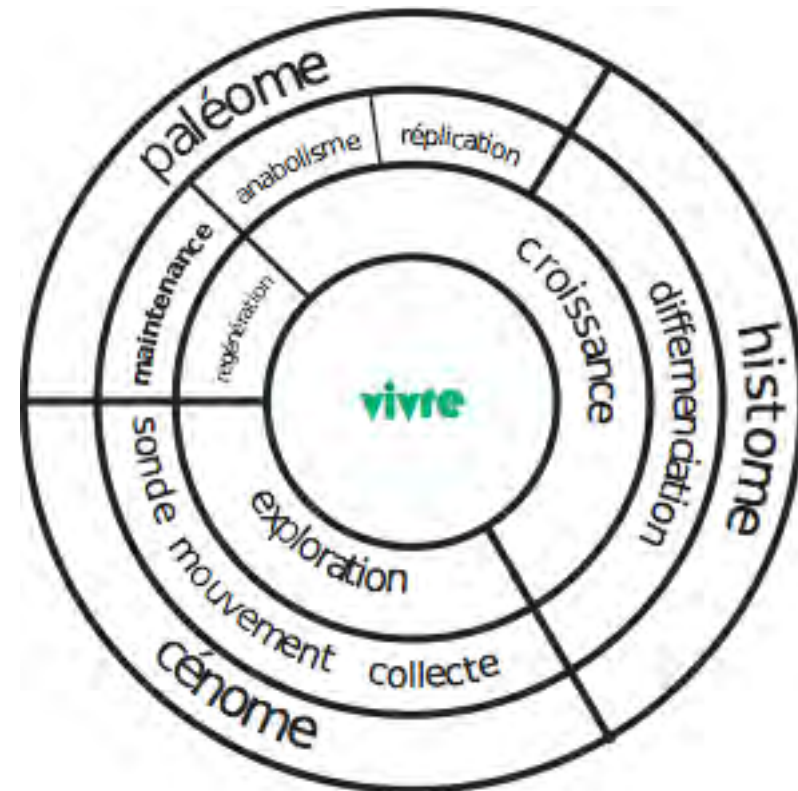
Perdigão N, [...], Schafferhans A, O'Donoghue SI. Unexpected features of the dark proteome. *Proc Natl Acad Sci U S A* (2015) 112:15898-15903

Extension du programme

- **Système d'exploitation:** paléome
- **Applications:** cénome
- **???** (fonctions noires)

Les génomes se composent de **trois** unités fonctionnelles :

- commune à tous les membres de l'espèce (le **paléome**)
- propres à l'occupation d'une niche (le **cénome**)
- **spécifiques de sous-machines (tissus et organes : l'**histome**, de $\iota\sigma\tau\omicron$ ς , **tissu**) ; est-ce la signature du protéome noir ?**



Standards cellulaires

Paléomes universels et spécifiques

≈ 500 gènes codent le système d'exploitation pour l'organisation et le fonctionnement du **châssis universel** :

- 150 pour l'information : transcription, traduction et réplication
- 150 pour les transferts de matière/énergie; membrane influx/efflux et cœur métabolique
- 200 pour les fonctions de maintenance et de transitions de phase (certaines restent inconnues à ce jour)

1,000 gènes en plus pour le métabolisme (synthèse, recyclage des métabolites de base, gestion des sources d'énergie) quand les cellules doivent se contenter de minéraux dans l'environnement

???

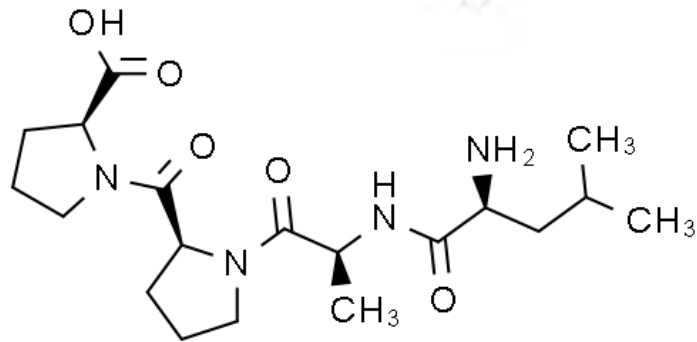
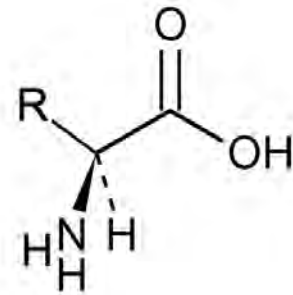
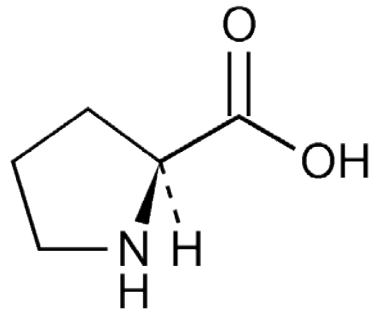
gènes définissant l'espèce (ou le type cellulaire)

Quelques contraintes inévitables

- **Gestion de la matière**
 - Atomes
 - Acides aminés
 - **Phospholipides pour les membranes**
- **Gestion de l'espace**
 - Chemins métaboliques (protection / déprotection, etc)
 - Couplages 1D, 2D, 3D
 - Organisation du génome (l'ordre des gènes n'est pas aléatoire)
 - Biais d'usage des codons
 - Repliement des protéines
- **Gestion du temps**
 - Vieillesse
 - Rénovation (métabolites, macromolécules)
 - **Gestion de l'information**

Implantation dans la matière

Ceci n'est pas un acide aminé !

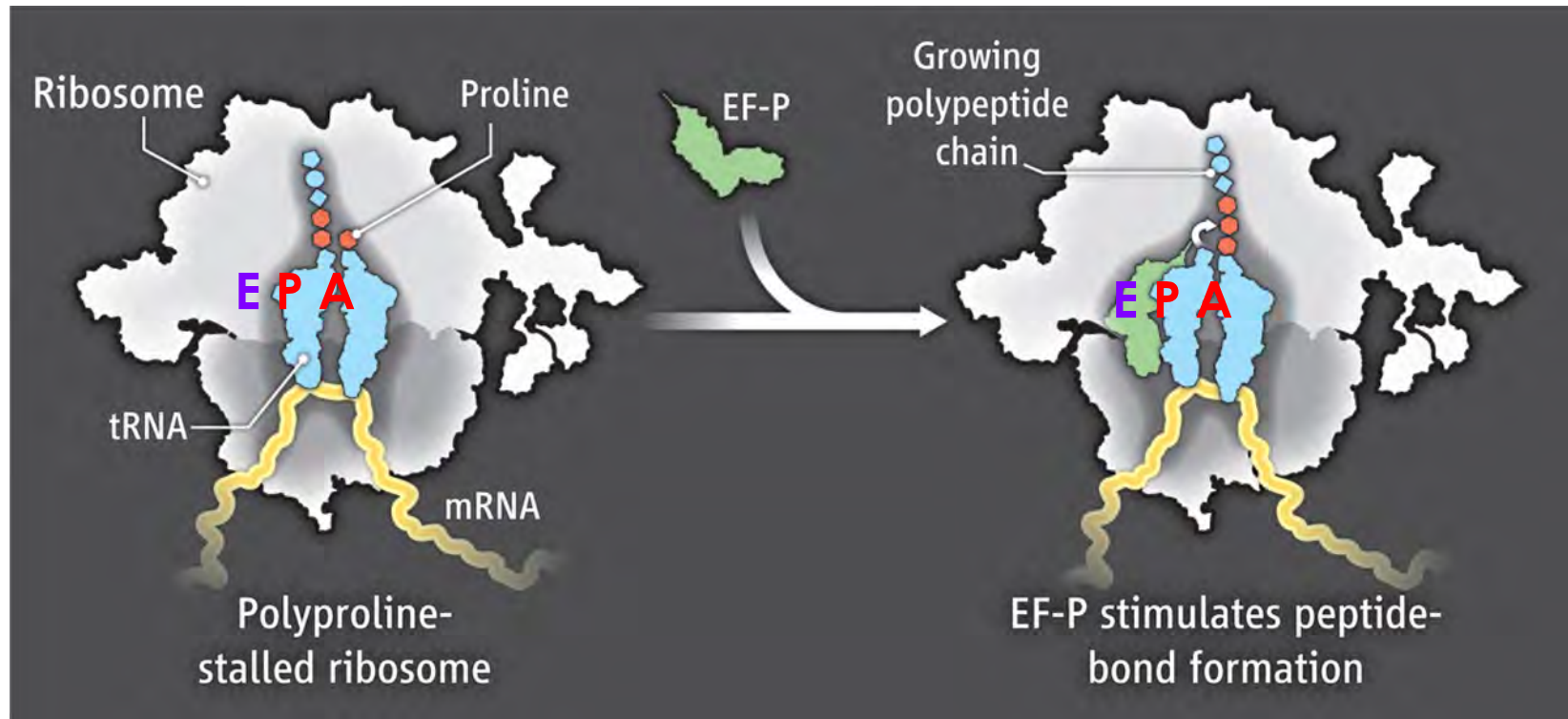


La proline est un **imino** acide
(l'azote est liée à deux
atomes de carbone)

Former une liaison peptidique
est plus difficile qu'avec les
19 autres acides aminés

Pavlov MY, Watts RE, Tan Z, Cornish VW, Ehrenberg M, Forster AC
Slow peptide bond formation by proline and other N-alkylamino acids in translation
Proc Natl Acad Sci U S A. 2009 106:50-54

Un facteur de traduction spécifique



Ude S, Lassak J, Starosta AL, Kraxenberger T, Wilson DN, Jung K
Translation elongation factor EF-P alleviates ribosome stalling at polyproline stretches
Science 2013 339:82-85

EF-P est essentiel

L'enzyme chargeant l'acide aminé valine sur l'ARNt contient un peptide universellement conservé de trois prolines, nécessitant EF-P (eIF5A chez les Eukarya)

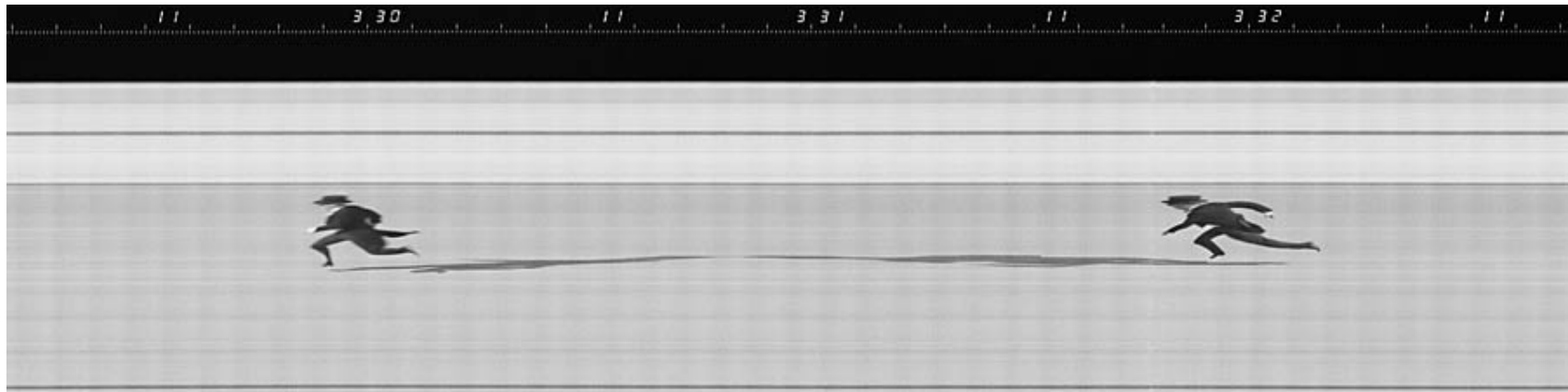
Un fois recruté EF-P a pu être utilisé pour permettre d'autres sortes de suites peptidiques qui auraient ralenti la traduction

Gestion du temps

L'espace vu depuis le temps

Sortons de la pensée rebattue :

Ceci est une photographie non truquée !



http://www.koschies.de/images/koschies_pontius_pilatus.jpg

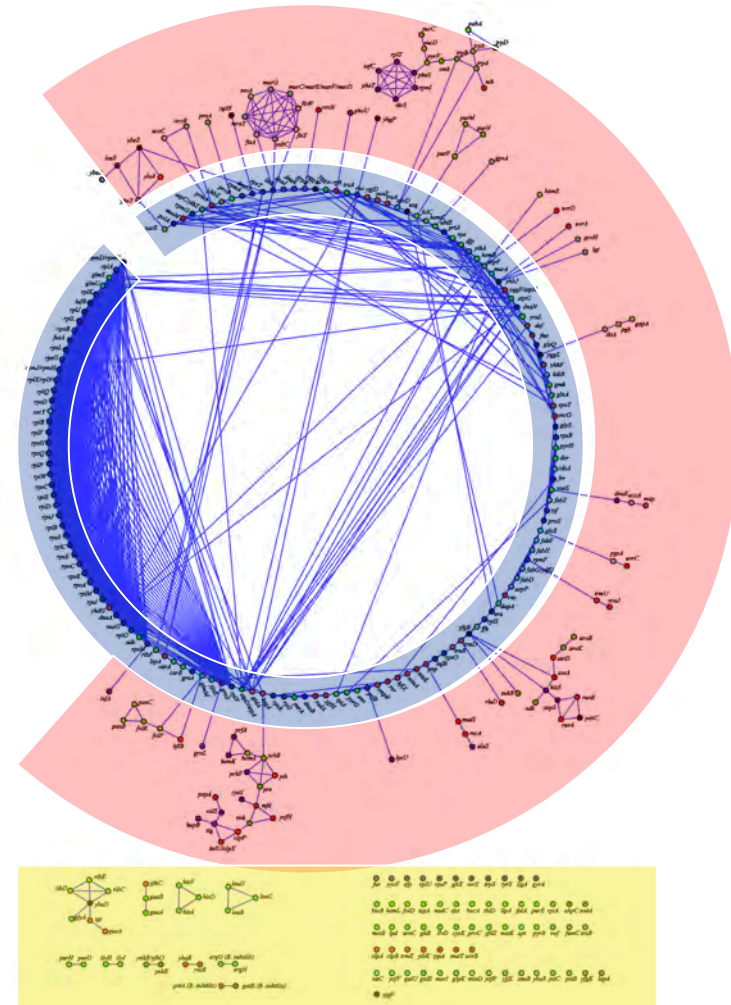
Le paléome récapitule l'origine de la vie

Réseau externe : métabolisme intermédiaire (nucléotides, coenzymes, lipides)

Réseau médian : autour des ARNt synthétases

Réseau intérieur : ribosome, transcription et réplication ; gestion des transferts d'information

Les **coenzymes** et les **maillons élémentaires des acides nucléiques et des protéines** mènent au « **métabolisme-ARN** » supporté par l'**ancêtre des ARN de transfert**, suivi par un **monde du « génome-ARN »** où règne la loi de complémentarité et le concept de matrice, puis le code génétique, au sein d'une enveloppe lipidique



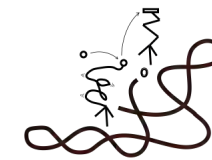
La phagocytose à l'origine des cellules

La combinaison des mondes de l'ARN-métabolisme (protocytoplasme) et de l'ARN-génome (proto-noyau) engendre l'ancêtre **phagocyte** des Eukarya (Protokarya) ; **cela ouvre la possibilité d'y échapper (résistance à la phagocytose)**

Archaea (ne fusionnent pas)
Bacteria (enveloppe résistante)

Métabolisme de surface

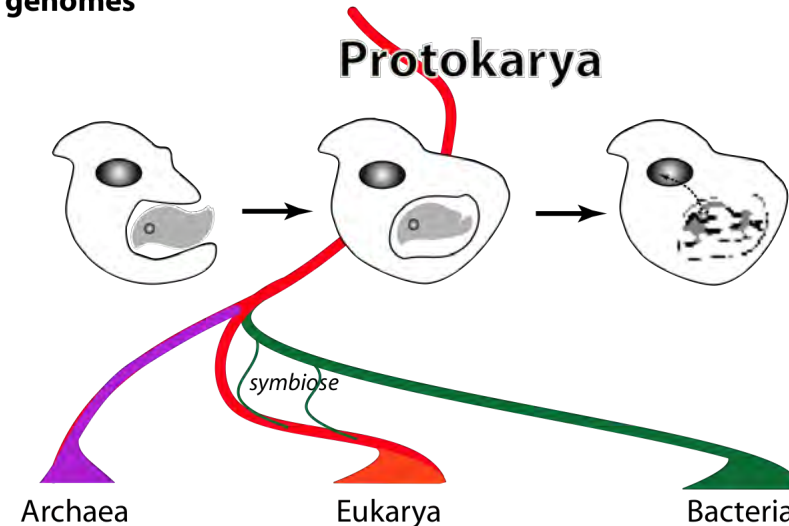
ARN-métabolisme



les ARN de transfert se substituent aux surfaces minérales

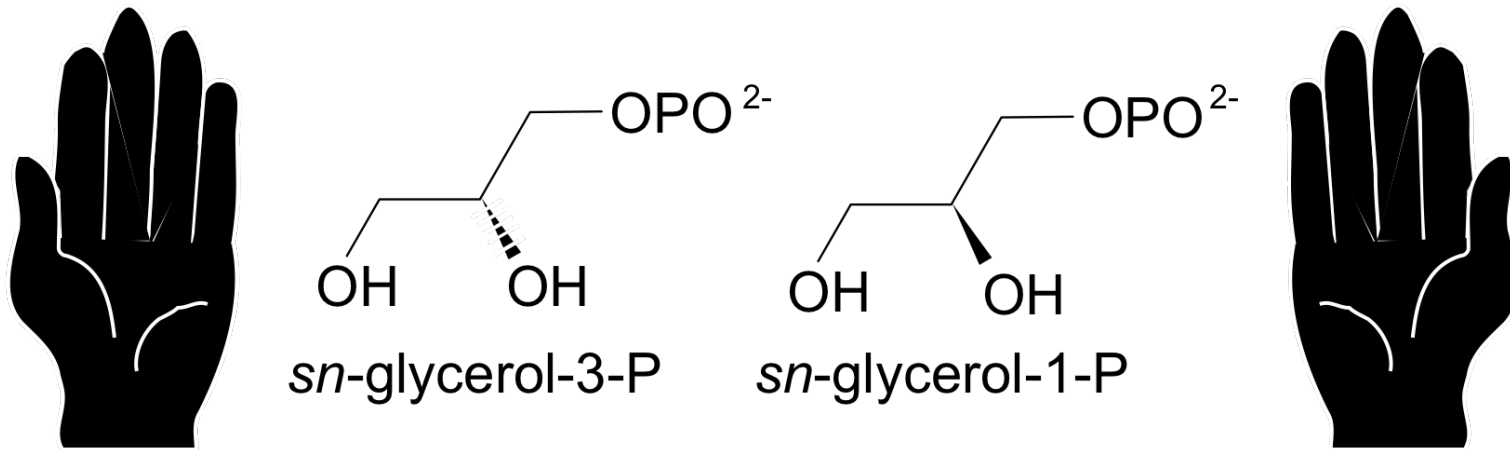


ARN génomes
ADN génomes



Échapper à la phagocytose

Avec la découverte du diaminopimélate et la formation d'une enveloppe rigide les Bactéries échappent



Les Archées trouvent une autre solution avec leurs lipides construits sur le *sn*-glycerol-1-phosphate qui ne fusionnent pas avec ceux de leurs prédateurs

Un châssis naturel : les Archées

Les membranes des Archées **ne fusionnent pas avec celles des Eucaryotes et des Bactéries**, construites sur le *sn*-glycérol-3-phosphate

Les Archaea ne sont jamais pathogènes et forment donc un châssis naturel inoffensif

Quid de l'information ?

SynBio : Changer d'échelle

Exemple: production de l'hormone de croissance humaine par génie génétique « classique »

Preuve de concept (ADNc chez *E. coli*) **1**

- Gène synthétique et expression x 200-1000
- **Chassis modifié et physiologie** x 200-1000

Production finale **200,000**

De la preuve de concept à la réalité

Preuve de concept : facile à mettre en œuvre (placer la réalisation du programme dans le châssis) ; sollicite le métabolisme comme une fuite, sans le modifier sensiblement

Échelle supérieure : des chemins accessoires sont peu à peu sollicités, ce qui interfère avec le métabolisme central de la cellule ; cela va empêcher la multiplication ou, en phase stationnaire, sera affecté par le vieillissement

Réactions "inutiles"

Pour identifier de nouvelles fonctions, nous devrions explorer les réactions qui utilisent de l'énergie sans bonnes raisons : « *known reactions which otherwise appear to be useless or deleterious complications* »

Hopfield JJ Kinetic proofreading: a new mechanism for reducing errors in biosynthetic processes requiring high specificity *Proc Natl Acad Sci USA* (1974) 71: 4135-4139

En voici un exemple : **la dégradation par hydrolyse est exothermique, pourquoi certaines protéases utilisent-elles de l'énergie ?**

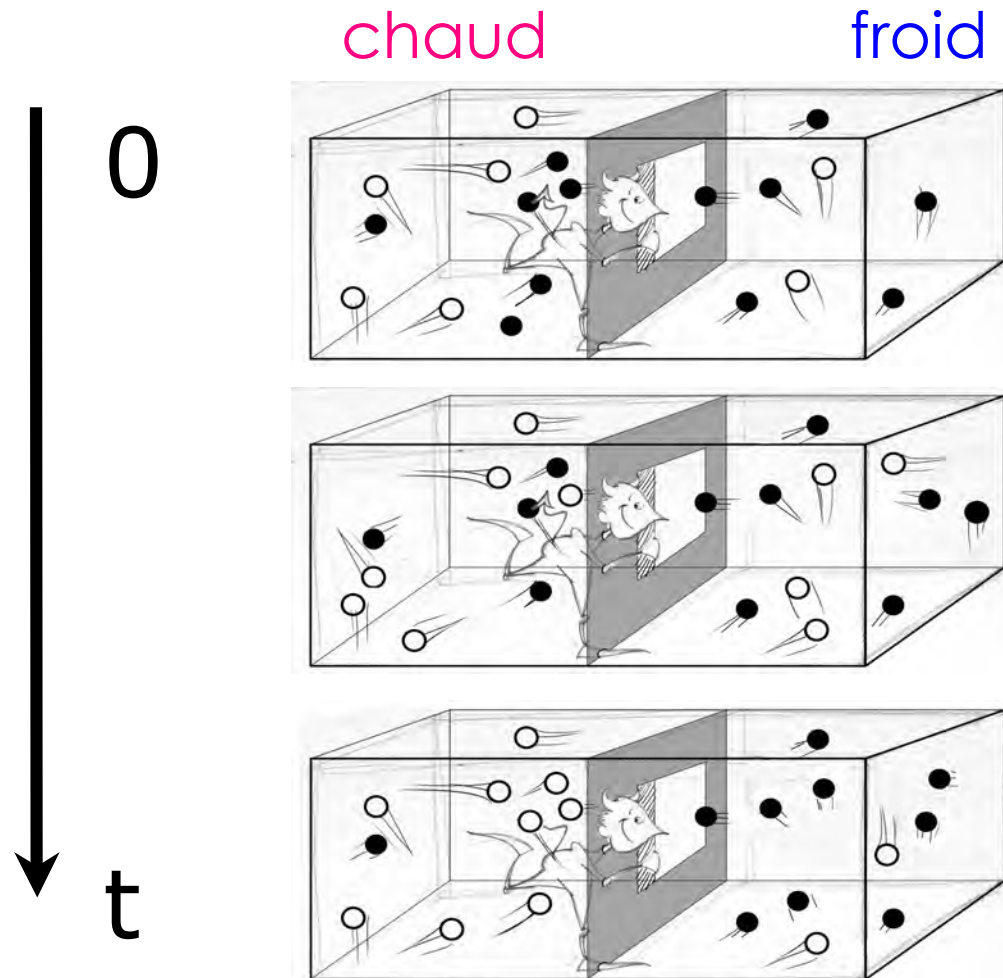
Information du contexte

L'information du programme est transmise "telle quelle" au cours de la réplication, sans valeur associée à des séquences particulières (sans signification) : où est l'information de la machine ?

Créer de l'information est créer une asymétrie: Existe-t-il un démon de Maxwell qui ferait le tri entre ce qui est fonctionnel (localement) et ce qui ne marche pas ?

Ce démon serait capable d'extraire l'information contextuelle, c'est-à-dire la signification

Le démon de Maxwell



Le démon accumule de l'information ou renverse le temps s'il peut **mesurer** la vitesse et la position des atomes de gaz, récoltant une **information** pour calculer quand il doit fermer la trappe. Il utilise de l'énergie pour **remettre à zéro sa mémoire**

Que reconnaît le démon ?

Tous les composants cellulaires vieillissent

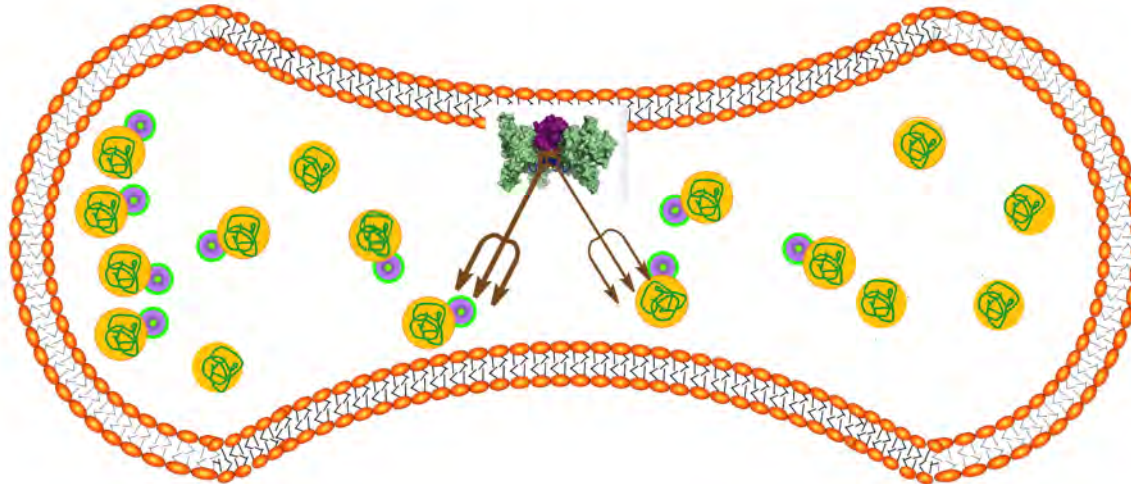
Ce ne sont pas seulement les agressions extérieures qui en sont la cause

Le squelette polypeptidique évolue spontanément dans le temps

Par exemple aspartate et asparagine se cyclisent en succinimide puis s'isomérisent en isoaspartate, ce qui introduit un groupement méthylène supplémentaire dans la chaîne polypeptidique et modifie la forme de la protéine

Démon de Maxwell et protéines âgées

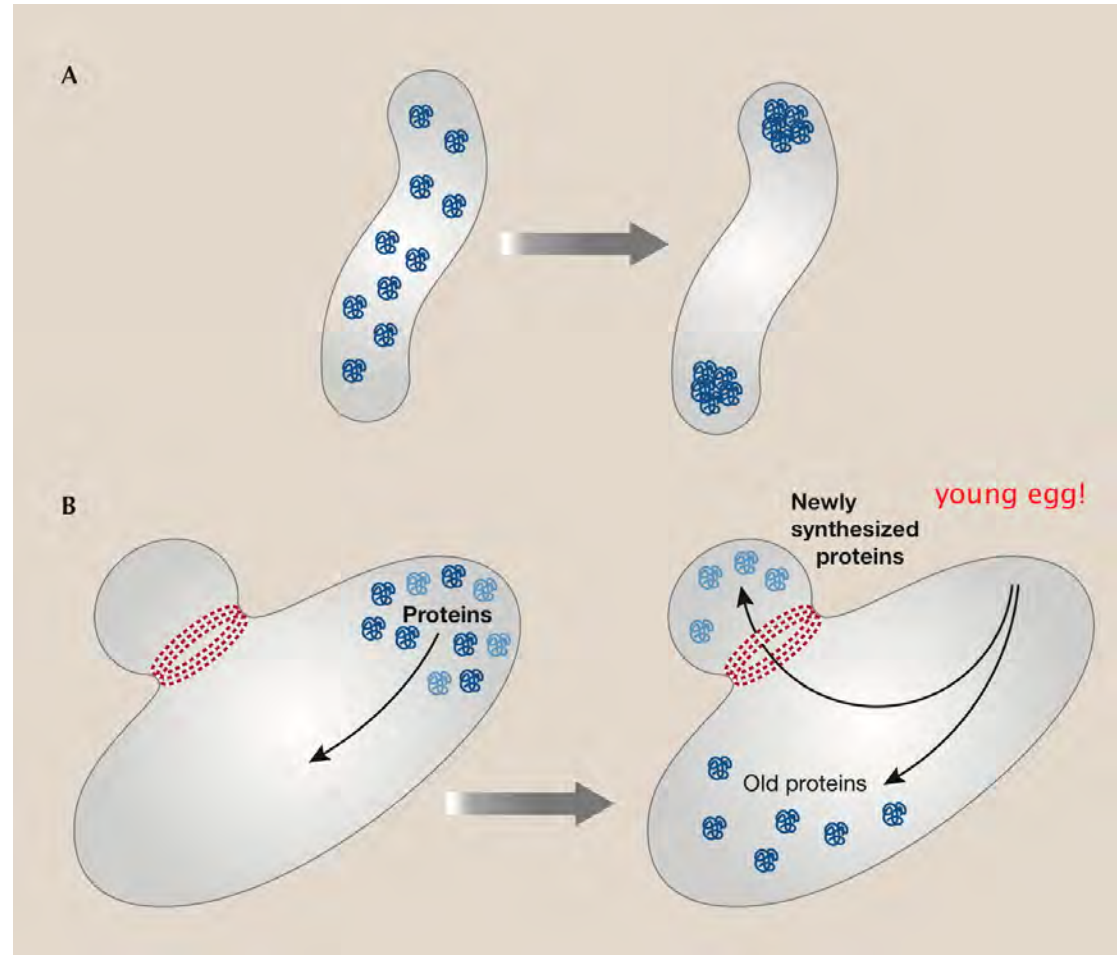
Les protéines vieilles vont dans la cellule mère, triées par les septines qui ne laissent passer les protéines que dans un sens, ou des protéases orientées qui ne les dégradent que d'un seul côté d'une séparation physique ; elles peuvent aussi être agrégées à un pôle de la cellule ; les effecteurs de ces réactions utilisent un quantum d'énergie (hydrolyse de l'ATP ou du GTP) pour restaurer leur état initial et recommencer le cycle



Les ovules sont très jeunes

Produire une descendance jeune suppose créer des cellules qui ne contiennent que des protéines nouvellement synthétisées, et laisser toutes les protéines vieilles dans les cellules parentales

Il faut un démon de Maxwell dans ce processus ; cela accumule de l'information



La vie piège l'information

- La dégradation qui dépend de l'énergie fait de la place pour des entités nouvellement synthétisées ; de l'énergie est consommée pour **prévenir** la dégradation des entités fonctionnelles
- Ce processus accumule de l'information, quelle que soit son origine, par effet de cliquet et cela donne l'aspect « bricolé » des organismes vivants
- Ce processus est ubiquiste et les fonctions correspondantes sont codées dans le paléome

Une cellule synthétique ?

- Le rêve d'ingénieur de la biologie synthétique exclut que les cellules artificielles soient innovantes
- Il est possible d'exclure les gènes permettant l'accumulation d'information
- La conséquence est que, comme les usines, l'usine cellulaire vieillira et devra être systématiquement reconstruite
- Cela pose problème pour l'utilisation à grande échelle de cellules synthétiques

Merci de votre intérêt

Cette conférence a bénéficié des discussions tenues au séminaire Stanislas Noria

http://www.normalesup.org/~adanchin/causeries/causeries_fr.html

Soutiens financiers



FONDATION
SCIENTIFIQUE
FOURMENTIN-GUILBERT

