

LE FORÇAGE GÉNÉTIQUE (GENE DRIVE) ET SES APPLICATIONS

GENE DRIVE AND ITS APPLICATIONS

Par Virginie COURTIER-ORGOGOZO⁽¹⁾
(Communication présentée le 3 Octobre 2019,
Manuscrit accepté le 5 Décembre 2019)

RÉSUMÉ

Le forçage génétique est une nouvelle technique de manipulation génétique qui a été développée ces cinq dernières années et qui permet de propager rapidement des modifications génétiques dans les populations naturelles. Les applications potentielles sont nombreuses, à la fois en santé publique, en agriculture et en biologie de la conservation. Cet article présente les développements actuels de cette biotechnologie, ainsi que les enjeux et les risques qui y sont associés.

Mots-clés : gene drive, forçage génétique, biotechnologie, CRISPR, paludisme, nuisible.

ABSTRACT

Gene drive is a new genetic engineering technology that has been developed over the past five years and that allows genetic modifications to spread rapidly in natural populations. Potential applications are numerous, for public health issues, agriculture and conservation biology. This article presents the current developments in this biotechnology, as well as the issues and risks associated with it.

Key words: gene drive, biotechnology, CRISPR, malaria, pest.

ABRÉVIATIONS

CRISPR: Clustered Regularly Interspaced Short Palindromic Repeats ;

DARPA : Defense Advanced Research Projects Agency ;

OGM : Organisme Génétiquement Modifié

INTRODUCTION

Modifier à son bon vouloir les populations naturelles en utilisant des éléments génétiques capables de favoriser leur propre transmission était, jusque dans les années 2000-2010, un simple rêve de généticien (Burt, 2003). Aujourd'hui, avec le développement de la technologie CRISPR (Zhang, 2019) et les énormes sommes d'argent allouées à la recherche vers cette possibilité, il est en train de se concrétiser. Si l'on fabrique un fragment d'ADN bien particulier, qu'on l'intègre dans le génome de quelques dizaines d'individus et qu'on relâche ces organismes transgéniques dans une population naturelle, il est envisageable qu'au bout de quelques générations, 100% de la population porte ce fragment d'ADN : c'est le forçage génétique, ou «*gene drive*» en anglais (Esvelt *et al.* 2014). Deux approches sont développées : d'une part, propager une mutation qui rend les femelles (ou les mâles) totalement stériles ou non viables, afin d'obtenir l'ex-

tingtion de la population en question ; d'autre part, propager des gènes qui confèrent aux individus des traits de caractères souhaités. Les applications potentielles sont nombreuses : rendre les moustiques incapables de transmettre le paludisme, éliminer totalement les moustiques vecteurs du paludisme, éliminer les insectes nuisibles des cultures, supprimer les rats qui mangent les œufs des oiseaux endémiques de Nouvelle Zélande, rendre les plantes invasives moins envahissantes, modifier des espèces en danger afin d'éviter leur extinction, etc. (Rode *et al.* 2019).

ÉTAT ACTUEL DE LA TECHNOLOGIE DE FORÇAGE GÉNÉTIQUE

Actuellement, le forçage génétique est à l'état de test dans les laboratoires et dans de grandes cages de 3 m de haut dans un

(1) CNRS, Institut Jacques Monod, Université de Paris, 15 rue Hélène Brion, 75013 Paris.
Courriel : virginie.courtier@normalesup.org

bâtiment hautement confiné en Italie (Stein, 2019). Il a été montré que le forçage génétique fonctionne chez la levure, la mouche *Drosophila melanogaster*, les moustiques *Anopheles gambiae* et *Anopheles stephensi*, la souris et le champignon pathogène *Candida albicans* (Rode et al. 2019). Ainsi, chez ces diverses espèces, l'homme a pu fabriquer des éléments d'ADN de forçage capables de se transmettre à plus de 70-90% de la descendance, alors que normalement la transmission mendélienne d'un fragment d'ADN est de 50% (Figures 1A-B). Dans une population de 600 moustiques, l'introduction de 25 % d'individus porteurs d'un ADN de forçage génétique a conduit à l'extinction totale de la population en 8 générations dans une première cage et en 12 générations dans une deuxième (Kyrou et al. 2018). La plupart des travaux de recherche sur le forçage génétique sont réalisés aux États-Unis et au Royaume-Uni. En France, il n'existe à ma connaissance qu'un seul laboratoire menant des expériences sur des organismes contenant des éléments d'ADN de forçage génétique : l'Institut de biologie moléculaire

et cellulaire à Strasbourg. Aucun lâcher n'a été effectué jusqu'à présent dans la nature, mais l'équipe «Target Malaria», financée par la fondation Bill and Melissa Gates, a commencé un travail de sensibilisation et d'entraînement avec des moustiques sans forçage génétique dans plusieurs villages du Burkina Faso, afin de préparer le terrain pour un éventuel relargage futur (Swetlizt 2018 ; Pujol-Mazzini 2019).

LE PRINCIPE DE LA TECHNIQUE DE FORÇAGE GÉNÉTIQUE

Le forçage génétique se base sur la technologie CRISPR, qui a été mise au point en 2012 et qui permet de couper facilement l'ADN à un site choisi (Jinek et al. 2012). La coupure de l'ADN est réalisée par complexe moléculaire protéine-ARN composé de la protéine Cas-9 et d'un ARN dit « ARN guide » qui contient la séquence cible à couper (20 nucléotides de long).

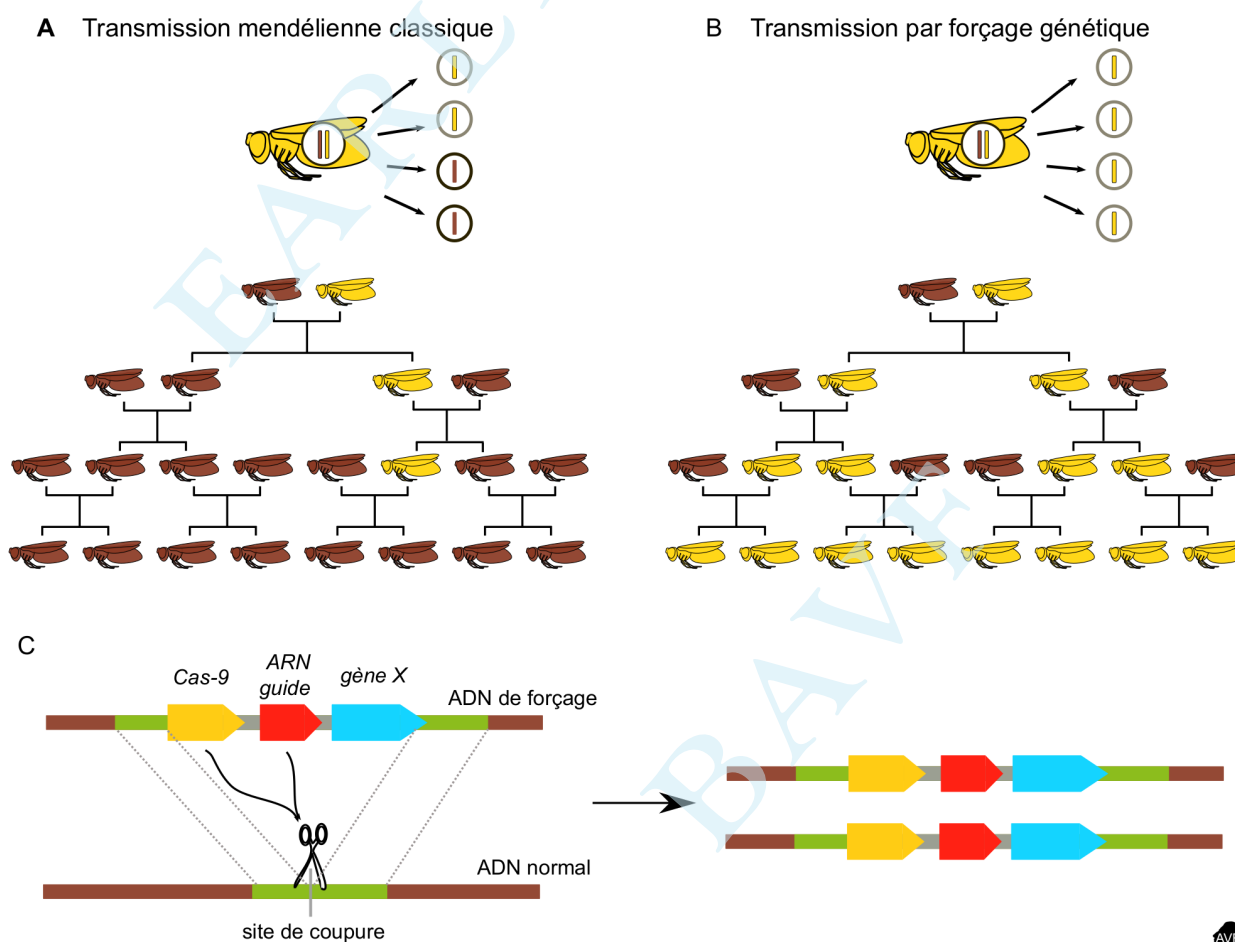


Figure 1 : Propagation du forçage génétique. (A) Transmission mendélienne d'une mutation classique portée par le chromosome jaune. Un individu hétérozygote a 50% de chance de transmettre cette mutation. (B) Transmission d'un ADN de forçage génétique. Un individu hétérozygote a 90-100% de chance de transmettre cet ADN. Au bout de quelques générations, la totalité de la population est contaminée. (C) Mécanisme moléculaire de multiplication de l'ADN de forçage génétique. Cet ADN contient trois éléments : un gène codant la protéine Cas-9 (en jaune), un gène codant l'ARN guide (en rouge), éventuellement un gène X conférant un trait d'intérêt et des séquences flanquantes (en vert) permettant la reconnaissance des régions qui bordent le site de coupure. La séquence de l'ARN guide permet au complexe Cas-9/ARN guide de couper l'ADN au site choisi. La coupure d'ADN est ensuite réparée par recombinaison homologue grâce aux séquences flanquantes, ce qui conduit à l'insertion d'un nouveau fragment d'ADN de forçage au site de coupure.

La technologie CRISPR fonctionne à la fois chez les bactéries, les plantes, les animaux et les champignons (Zhang, 2019), ce qui ouvre un vaste champ de possibilités pour le forçage génétique. Un ADN de forçage génétique réunit en son sein tous les éléments de la technologie CRISPR : le gène codant la protéine Cas-9, le gène codant l'ARN guide, et des séquences flanquantes qui permettent d'insérer la totalité de l'ADN de forçage génétique à un autre locus, au site de coupure cible (Fig. 1C). Le principe est le suivant : dans une cellule possédant un chromosome contenant un fragment d'ADN de forçage génétique et un chromosome normal portant la séquence cible, le complexe Cas-9/ARN guide va se former et couper le chromosome normal. La cassure double brin de l'ADN va entraîner une réparation par recombinaison homologue, en utilisant les séquences flanquantes du fragment d'ADN de forçage génétique. Ainsi, l'ADN de forçage génétique va se retrouver sur les deux chromosomes. Comme les gènes codant Cas-9 et l'ARN guide sont agencés de telle sorte qu'ils soient exprimés dans les cellules germinales qui vont produire les gamètes, un individu porteur d'une seule copie de l'ADN de forçage génétique (hétérozygote) va transmettre à la totalité de sa descendance ce fragment d'ADN particulier. Répété sur plusieurs générations, ce phénomène conduit, au bout du compte, à la contamination de toute la population (**Figure 1B**).

Avec le forçage génétique, il est possible de manipuler les gènes de deux façons différentes. Dans certains cas, un gène d'intérêt est introduit dans le fragment d'ADN de forçage génétique. Par exemple, des gènes codant des anticorps dirigés contre certaines protéines du parasite vecteur du paludisme, *Plasmodium falciparum*, ont été utilisés et ont permis d'obtenir des populations de moustiques qui ne transmettent plus la maladie (Gantz *et al.* 2015). Dans d'autres cas, c'est l'insertion du fragment d'ADN de forçage lui-même qui crée la mutation souhaitée. Une population de moustiques en cage a ainsi été éradiquée grâce à l'insertion du fragment au locus *doublesex*, ce qui rend les femelles stériles et n'affecte pas les mâles (Kyrou *et al.* 2018).

DÉJOUER LA SÉLECTION NATURELLE

Le forçage génétique manipule deux des trois piliers de la sélection naturelle : les mutations et l'hérédité. En effet, les mutations n'apparaissent plus aléatoirement mais exactement là où le forçage génétique a été conçu pour couper et la mutation produite est celle qui est souhaitée (ici l'insertion du fragment d'ADN de forçage). De plus, alors qu'un parent transmet normalement la moitié de ses gènes à son enfant, le forçage génétique favorise sa propre transmission. De ce fait, le troisième pilier de la sélection naturelle, à savoir la reproduction différentielle des individus en lien avec leurs caractères transmissibles, est totalement bouleversé : un allèle qui rend les femelles stériles peut se répandre et éliminer à terme toute une population.

DES ENJEUX IMPORTANTS EN AGRICULTURE

Bien que le forçage génétique soit souvent présenté dans les médias comme une nouvelle solution aux problèmes de santé publique, l'une de ses applications potentielles majeures est en agriculture (ETC Group, 2018). Dans le brevet principal détaillant le forçage génétique, déposé par Kevin Esvelt, plus de 160 espèces animales nuisibles pour l'agriculture et plus de 180 espèces de mauvaises herbes agricoles sont recensées comme cibles potentielles (ETC Group, 2018). La mouche invasive *Drosophila suzukii* est certainement l'une des premières espèces sur laquelle le forçage génétique sera appliqué (Scott *et al.* 2018). Ce diptère est très proche de l'organisme modèle de laboratoire *D. melanogaster*, pour lequel de nombreux outils génétiques sont déjà disponibles. *D. suzukii* a envahi l'Europe et l'Amérique du Nord depuis 2008 et crée des dégâts importants dans les cultures fruitières (vignes, cerises, fraises, framboises, pêches, etc.) en introduisant ses œufs dans les fruits avant qu'ils ne soient mûrs, contrairement aux drosophiles autochtones qui pondent sur les fruits pourris. Alors qu'avec les OGMs, ce sont les plantes cultivées et les animaux d'élevage qui sont manipulés ; avec le forçage génétique, c'est l'écosystème lui-même qui est modifié (Courtier-Ordogozo *et al.* 2017 ; Montenegro de Wit 2019). Ce sont les espèces nuisibles – celles qui contraignent la production agricole – qui sont ciblées. Contrairement aux OGMs, le but ici est que les éléments génétiques se répandent dans les populations naturelles. De ce fait, le risque de traversée des frontières est élevé, et toute décision réglementaire prise à l'échelle d'un seul pays au sujet du forçage génétique semble particulièrement inadaptée à cette biotechnologie.

LES POINTS À AMÉLIORER AVANT DE POUVOIR APPLIQUER LE FORÇAGE GÉNÉTIQUE

Ce n'est que depuis 2012 que les chercheurs ont commencé à utiliser les ciseaux moléculaires CRISPR pour essayer d'implémenter le forçage génétique. Il reste encore plusieurs points à améliorer avant d'obtenir une technique réellement efficace et avant d'envisager le relargage dans la nature. Avec la technique actuelle, le risque d'apparition de gènes de résistance au forçage est important (Unckless *et al.* 2017). Les chercheurs sont actuellement en train de tester plusieurs approches pour s'en affranchir, tels que l'utilisation de plusieurs ARNs guides, ou la coupure d'un locus qui ne tolère pas les mutations. De plus, les réservoirs d'espèces cryptiques ou de populations qui ne s'hybrident pas avec les individus introduits portant l'ADN de forçage posent problème et peuvent empêcher la diffusion du forçage génétique.

LES AVANTAGES LIÉS AU FORÇAGE GÉNÉTIQUE

De nombreux groupes et personnes voient dans le forçage génétique une nouvelle piste prometteuse pour éradiquer certaines maladies et certains nuisibles. En Nouvelle Zélande, par exemple, un programme gouvernemental visant à éliminer complètement plusieurs espèces de mammifères envahissantes envisage d'utiliser le forçage génétique (Dearden *et al.* 2018). Comparé aux autres méthodes, le forçage génétique est potentiellement moins coûteux, moins polluant, plus rapide et plus efficace. Néanmoins, cette technologie est nouvelle et nécessite une évaluation préalable des risques associés.

LES RISQUES LIÉS AU FORÇAGE GÉNÉTIQUE

Chaque technologie apporte son lot de risques pour les individus et pour les sociétés humaines. Les risques d'utilisation malveillante du forçage génétique sont non négligeables et la DARPA, l'agence américaine chargée de la recherche et du développement des nouvelles technologies destinées à un usage militaire, consacre maintenant une part importante de son budget au forçage génétique (Neslen, 2017). Différents types d'effets collatéraux involontaires malgré une intention bienveillante peuvent aussi être envisagés. Tout d'abord, l'ADN de forçage peut couper d'autres sites non souhaités dans l'ADN, ce qui peut conduire à la formation d'individus mosaïques altérés. L'ADN de forçage peut aussi se propager dans une autre population voire dans une autre espèce (Courtier-Orgozozo *et al.* 2019). De plus, l'information transportée par forçage génétique sous forme d'ADN est susceptible de se modifier, de se mélanger et de se répandre. Il est très difficile d'imaginer tous les changements que cet ADN pourrait éventuellement subir dans la nature, ainsi que leurs répercussions sur les individus portant cet ADN. Le forçage génétique peut également avoir des conséquences néfastes sur les écosystèmes. En modifiant toute une population par forçage génétique, des effets sont à attendre sur les espèces qui interagissent, directement ou indirectement, avec la population en question. Ces risques sont probablement très importants, mais les chercheurs qui sont en train de développer la technique de forçage génétique y sont relativement peu sensibles : ce sont des biologistes moléculaires habitués à la précision moléculaire, qui ne raisonnent pas dans les échelles de temps et de variation propres aux écosystèmes pour tenter d'imaginer les effets potentiels à long terme du forçage génétique. En cas de problème, pour stopper un forçage génétique, il a été préconisé d'utiliser un deuxième forçage génétique «garde-fou» (Esvelt *et al.* 2014). Mais aucun des garde-fous proposés jusqu'à présent ne restaure la séquence d'ADN originale ; et l'efficacité de ces garde-fous n'est pas claire. Comparé aux autres biotechnologies, le forçage génétique est potentiellement plus problématique pour plusieurs

raisons. Premièrement, l'environnement réglementaire n'est pas préparé à ce type de technologie qui dépasse les frontières entre pays. Deuxièmement, il est relativement facile aujourd'hui de produire des individus transgéniques porteurs d'un fragment d'ADN de forçage génétique. En effet, la coupure par CRISPR fonctionne chez toutes les espèces qui ont été testées jusqu'à présent (Zhang, 2019). L'étape limitante est d'injecter l'ADN de forçage dans les organismes et de réussir à cultiver/élever l'organisme jusqu'à un stade où il peut être relâché dans la nature. Troisièmement, les effets escomptés sur les populations ciblées sont de l'ordre d'une dizaine de générations, ce qui rentre bien dans le cadre de l'agriculture intensive, alors que les effets potentiels non prévus sur les écosystèmes sont susceptibles de se produire à plus long terme, et sortent alors des préoccupations des grandes entreprises agricoles (Courtier-Orgozozo *et al.* 2017).

LES DÉBATS ACTUELS

Les êtres vivants porteur d'un ADN de forçage sont considérés comme des OGM car ils possèdent des gènes exogènes provenant de bactérie (les gènes codant Cas-9 et l'ARN guide). Ils sont donc sujets aux réglementations nationales et internationales qui concernent les OGMs. Dans plusieurs pays comme la France, l'Allemagne, l'Australie, les États-Unis et les Pays Bas, des agences nationales ont émis des recommandations spécifiques quant à l'utilisation du forçage génétique (Haut Conseil des Biotechnologies 2017 pour la France ; NASEM 2016 pour les États-Unis ; voir Rode *et al.* 2019 pour les autres pays). Toutes mentionnent que la technique de forçage génétique n'est pas encore assez mature pour être utilisée dans l'environnement naturel et que des clarifications réglementaires sont nécessaires pour cette biotechnologie bien particulière. En octobre 2018, à l'occasion de la 14^e Conférence des parties (COP14) de la Convention sur la diversité biologique, plus de 200 organisations d'agriculteurs et de la société civile du monde entier ont publié une lettre appelant à un moratoire sur les technologies du forçage génétique (ETC 2018). Ce moratoire n'a pas été retenu mais il a été ajouté à la Convention l'obligation d'obtenir le consentement préalable des peuples autochtones et des communautés concernées par la dissémination avant de mettre en place un lâcher de forçage génétique. La Convention a été ratifiée par plus de 190 pays, mais pas par les États-Unis (<https://www.cbd.int/information/parties.shtml>) en raison de leur opposition aux dispositions régulant les droits de propriété intellectuelle. La technique de forçage génétique apparaît comme une nouvelle voie potentielle pour traiter divers problèmes de biologie de la conservation (suppression des espèces envahissantes), de santé publique (élimination des vecteurs de maladies), militaires (développement d'armes biologiques) et en agriculture. Comme elle a pour but de modifier durablement la nature sauvage, elle pose des questions éthiques et réglementaires majeures.

REMERCIEMENTS

L'auteure remercie chaleureusement Jean-Louis Guénet pour son invitation à présenter le forçage génétique à l'Académie Vétérinaire de France.

BIBLIOGRAPHIE

- Burt A. Site-specific selfish genes as tools for the control and genetic engineering of natural populations. *Proceedings of the Royal Society of London. Series B: Biological Sciences*, 2003; 270:921-8.
- Dearden PK, Gemmell N J, Mercier OR, Lester PJ, Scott MJ, Newcomb RD et al. The potential for the use of gene drives for pest control in New Zealand: a perspective. *Journal of the Royal Society of New Zealand*. 2018; 48:225-44.
- Courtier-Orgogozo V, Morizot B, Boëte C. Agricultural pest control with CRISPR based gene drive: time for public debate. *EMBO reports* 2017; 18:878-80.
- Courtier-Orgogozo V, Danchin A, Gouyon PH, Boëte C. Evaluating the probability of CRISPR-based gene drive contaminating another Species. *BioRxiv*. 2019; 776609.
- Esvelt KM, Smidler AL, Catteruccia F, Church GM. Emerging technology: concerning RNA-guided gene drives for the alteration of wild populations. *Elife*. 2014;3 e03401.
- ETC Group. Forcer l'agriculture : Comment les organismes modifiés par forçage génétique pourraient renforcer l'agriculture industrielle et menacer la souveraineté alimentaire. 2018. Accessible à : http://www.etcgroup.org/sites/www.etcgroup.org/files/files/etc_forcingthefarmreportfrench_4.pdf (consulté le 28.11.2019).
- Gantz VM, Jasinskiene N, Tatarenkova O, Fazekas A, Macias VM, Bier E, James AA. Highly efficient Cas9-mediated gene drive for population modification of the malaria vector mosquito *Anopheles stephensi*. *Proc Ntl Acad Sc*. 2015 ; 112 : E6736-E6743.
- Haut Conseil des Biotechnologies. Avis relatif à l'utilisation de moustiques génétiquement modifiés dans le cadre de la lutte antivectorielle.. 2017. Accessible à : <http://www.hautconseildesbiotechnologies.fr/fr/actualite/publication-lavis-sur-moustiques-gm> (consulté le 28.11.2019).
- Jinek M, Chylinski K, Fonfara I, Hauer M, Doudna JA and Charpentier E. A programmable dual-RNA-guided DNA endonuclease in adaptive bacterial immunity. *Science*. 2012; 337:816–21.
- Kyrou K, Hammond AM, Galizi R, Kranj N, Burt A, Beaghton AK et al. A CRISPR–Cas9 gene drive targeting doublesex causes complete population suppression in caged *Anopheles gambiae* mosquitoes. *Nature biotechnology*. 2018; 36: 1062.
- Montenegro de Wit M. Gene driving the farm: who decides, who owns, and who benefits? *Agroecology and Sustainable Food Systems*. 2019; 43: 1054-1074.
- NASEM. Gene drives on the horizon: advancing science, navigating uncertainty, and aligning research with public values. National Academies Press, Washington, D.C. 2016. Accessible à : <https://www.nap.edu/catalog/23405/gene-drives-on-the-horizon-advancing-science-navigating-uncertainty-and> (consulté le 28.11.2019).
- Neslen A. US Military Agency invests \$100m in genetic extinction technologies. *The Guardian*. December 4, 2017. Disponible à : <https://www.theguardian.com/science/2017/dec/04/us-military-agency-invests-100m-in-genetic-extinction-technologies> (consulté le 28.11.2019).
- Pujol-Mazzini A. We don't want to be guinea pigs: how one African community is fighting genetically modified mosquitoes. *The Telegraph*. 8 octobre 2019. Disponible à : https://www.telegraph.co.uk/global-health/science-and-disease/dont-want-gui-nea-pigs-one-african-community-fighting-genetically/?WT.mc_id=tmg_share_tw (consulté le 28.11.2019)
- Rode NO, Estoup A, Bourguet D, Courtier-Orgogozo V, Débarre F. Population management using gene drive: molecular design, models of spread dynamics and assessment of ecological risks. *Conservation Genetics*. 2019; 20: 671.
- Scott MJ, Gould F, Lorenzen M, Grubbs N, Edwards O, O'Brochta D. Agricultural production: assessment of the potential use of Cas9-mediated gene drive systems for agricultural pest control. *Journal of Responsible Innovation*. 2018; 5(sup1): S98-S120.
- Stein R. Scientists release controversial genetically modified mosquitoes in high-security lab. NPR. 20 février 2019. Disponible à : <https://www.npr.org/sections/goatsandsoda/2019/02/20/693735499/scientists-release-controversial-genetically-modified-mosquitoes-in-high-security-lab> (consulté le 28.11.2019)
- Swetlitz I. Researchers to release first-ever genetically engineered mosquitoes in Africa. *STAT News*. 5 septembre 2018. Disponible à : <https://www.statnews.com/2018/09/05/release-genetically-engineered-mosquitoes-africa/> (consulté le 28.11.2019).
- Unckless RL, Clark AG, Messer PW. Evolution of resistance against CRISPR/Cas9 gene drive. *Genetics*. 2017; 205:827-41.
- Zhang F. Development of CRISPR-Cas systems for genome editing and beyond. *Quarterly Reviews of Biophysics*. 2019; 52, E6.
- Le lecteur pourra aussi se référer aux articles déjà publiés disponibles à : <http://documents.revues.inist.fr/handle/2042/47354>