

Articles rédigés par France Brunelle, conseillère scientifique expert en biotechnologie, de la Direction de l'appui à la recherche et à l'innovation, au Sous-ministère des politiques alimentaires, au ministère de l'Agriculture, des Pêcheries et de l'Alimentation.

L'outil CRISPR-Cas9 ouvre la voie à la modification génétique de populations sauvages

Une nouvelle génération d'outils pour la réparation du génome, s'appuyant sur le système CRISPR (*Clustered Regularly Interspaced Short Palindromic Repeats* ou courtes répétitions palindromiques groupées et régulièrement espacées), est maintenant à la disposition de la communauté scientifique. Cette méthode s'est développée de façon remarquable au cours des dernières années, en partie en raison de sa simplicité d'utilisation et de son efficacité. Dans la nature, CRISPR est, entre autres choses, à la base du système immunitaire adaptatif des bactéries. En effet, les répétitions CRISPR sont composées d'une courte séquence de nucléotides, suivies, approximativement, par la même séquence inversée (séquence palindromique) et d'une séquence « spacer » composée d'environ 30 paires de base. Ce « spacer » est de l'ADN viral qui a été inséré dans le génome de l'hôte, à la suite d'une précédente infection par un virus. Une fois la séquence CRISPR transcrite en ARN (crRNA), la séquence du « spacer » reconnaît sa séquence complémentaire dans le génome du virus.

Des protéines Cas (CRISPR-associated) vont ensuite se lier à la séquence palindromique du crRNA et provoquer la cassure de l'ADN du virus et neutraliser ainsi l'invasion. Les fragments d'ADN viral produits sont alors incorporés dans le génome de l'hôte, comme de nouveaux « spacers » et seront transmis au moment de la division microbienne. En conséquence, les descendants de chaque individu porteront la trace de cette infection virale. Depuis peu, les biologistes ont tiré profit de ce processus qui peut permettre une modification particulière d'un gène défectueux.

En avril 2015, des scientifiques chinois ont réalisé une première mondiale : ils ont modifié le génome d'embryons humains non viables grâce à la technique CRISPR-Cas9. La communauté scientifique a alors réagi vivement et sonné l'alerte quant au danger potentiel de toute modification de l'ADN de la lignée germinale, qui se compose de cellules qui sont à l'origine des gamètes et dont les mutations peuvent se transmettre à la descendance.

- 01 L'outil CRISPR-Cas9 ouvre la voie à la modification génétique de populations sauvages
- 03 La transgénése 2.0 avec CRISPR/Cas9 : multiples modifications génétiques et édition du génome sans laisser de traces¹
- 05 Modifications génétiques : le système CRISPR... la suite

Le 26 mai 2015, la Maison-Blanche, par le truchement d'une note officielle, a fait connaître sa position concernant la modification du génome des lignées germinales. Ainsi, le Dr John Holdren, conseiller du président pour la science et la technologie, a déclaré que la modification des gamètes humains à des fins cliniques constituait, pour le moment, une ligne à ne pas franchir et que les choix faits dans un seul pays peuvent avoir une incidence sur tous les autres. L'Administration américaine a tout de même reconnu que les percées du siècle dernier quant aux technologies utilisées dans le domaine de la santé ont permis de réduire considérablement la mortalité infantile, d'augmenter l'espérance de vie et de soulager de nombreuses souffrances. Cependant, les nouvelles techniques comportent aussi des risques et des enjeux éthiques qui nécessitent une réflexion approfondie.

CRISPR-CAS9 ET « GENE DRIVE » : UNE STRATÉGIE DE MODIFICATION GÉNÉTIQUE « TRANSMISSIBLE » POUR LUTTER CONTRE LE PALUDISME

Des chercheurs californiens viennent de produire des moustiques modifiés génétiquement au moyen de CRISPR-Cas9 qui résistent au parasite à l'origine du paludisme et qui sont en mesure, contrairement aux règles de l'héritabilité traditionnelle, de transmettre cette modification à près de 98 % de leur descendance grâce à un mécanisme de copier-coller génétique (*gene drive*). Si ces moustiques modifiés étaient relâchés dans la nature, le gène de résistance pourrait se communiquer à

la population de moustiques sauvages en une dizaine de générations (soit une saison chez ces espèces) et avoir une incidence majeure sur ce vecteur de contamination. Cela pourrait ainsi conduire à l'immunisation, au fil des générations, de cette espèce de moustique contre le parasite.

EST-CE QUE CRISPR-CAS9 EST TRANSPOSABLE À L'AGRICULTURE ?

Les travaux des chercheurs californiens constituent une percée scientifique et la démonstration de la faisabilité de cette technique dans la lutte contre le paludisme. Ceci ouvre des perspectives sur le plan de la santé publique et dans le domaine agronomique. Selon les chercheurs, l'outil viendrait soutenir l'agriculture en inversant les résistances des insectes ou des mauvaises herbes aux pesticides et aux herbicides et en contrôlant les espèces envahissantes nuisibles grâce à l'édition de bases génétiques aptes à dénouer ces problèmes.

Des discussions ont lieu à l'échelle internationale pour déterminer si les plantes modifiées à l'aide de la technique CRISPR-Cas9 doivent être considérées comme des OGM ou non. Au mois de novembre 2015, le Conseil suédois de l'agriculture a indiqué que, selon son interprétation, les plantes dont le génome a été modifié au moyen de technique CRISPR-Cas9 ne tombent pas sous la définition des OGM adoptée en Europe. Il reste à savoir si les autres pays emboîteront le pas relativement à cette définition.

EXTRAITS DE :

« L'outil CRISPR/Cas9 ouvre la voie à la modification génétique de population sauvage » [En ligne], Mission pour la science et la technologie de l'Ambassade de France aux États-Unis, 4 décembre 2015 [http://www.france-science.org/L-outil-CRISPR-Cas9-ouvre-la-voie.html?mc_cid=dc54c095ab&mc_eid=68a6722467#nb1].

« Modification du génome humain : la Maison Blanche prend position » [En ligne], Mission pour la science et la technologie de l'Ambassade de France aux États-Unis, 19 juin 2015 [<http://www.france-science.org/Modification-du-genome-humain-la.html>].

« Les nucléases, de fabuleux outils pour la chirurgie du génome : les États-Unis se mobilisent » [En ligne], Mission pour la science et la technologie de l'Ambassade de France aux États-Unis, 12 décembre 2014 [<http://www.france-science.org/Les-nucleases-de-fabuleux-outils.html>].

RÉFÉRENCES :

HOLDREN, J. P., "A Note on Genome Editing" [En ligne], The White House, Office of Science and Technology Policy, 26 may 2015 [<https://www.whitehouse.gov/blog/2015/05/26/note-genome-editing>].

ESVELT, K.M., et al., (2014). *Emerging technology: Concerning RNA-guided gene drives for the alteration of wild populations*, *Life*, doi : 10.7554/eLife.03401 [En ligne] : [<http://elifesciences.org/content/elife/3/e03401.full.pdf>].

"Green light in the tunnel": *Opinion of the Swedish Board of Agriculture – a CRISPR-Cas9-mutant but not a GMO*. Press Release from Umeå University, 17 novembre 2015. [En ligne] : <http://www.umu.se/ViewPage.action?siteNodId=4510&languageId=1&contentId=259265>

VOYTAS, D.F. et, C. GAO (2014) *Precision Genome Engineering and Agriculture: Opportunities and Regulatory Challenges*. *PLoS Biol* 12(6): e1001877. [En ligne] : <http://www.plosbiology.org/article/doi/10.1371/journal.pbio.1001877&representation=PDF>

Publié dans la cellule de veille OGM n° 39 de décembre 2015 et envoyé le 22 décembre aux abonnés.

La transgénèse 2.0 avec CRISPR/Cas9:

multiples modifications génétiques et édition du génome sans laisser de traces¹

Outre la possibilité de modifier le génome de n'importe quelle espèce, plus facilement et à moindre coût qu'avec les techniques précédentes, le système CRISPR/Cas9² a permis le développement d'approches inédites en ingénierie génétique dont les retombées sont loin de se limiter à la sphère universitaire.

CRISPR ET L'INGÉNIERIE GÉNÉTIQUE PORCINE : DES ENJEUX BIOMÉDICAUX ET AGROALIMENTAIRES

Des chercheurs de l'université Harvard³ ont utilisé CRISPR/Cas9 pour inactiver les 62 copies d'un gène nécessaire à la transmission de rétrovirus dans des cellules hépatiques porcines en culture. Cette modification permet de réduire drastiquement la transmission du virus à des cellules humaines *in vitro*. La présence chez le porc de ces rétrovirus endogènes potentiellement transmissibles à l'homme est l'un des obstacles au développement de techniques visant à utiliser des organes de porcs pour des greffes chez l'humain. La preuve de concept *in vitro* de la modification de toutes les copies d'un gène constitue donc un progrès remarquable, même si l'efficacité de cette technique dans l'organisme reste à démontrer.

Le virus du syndrome reproducteur et respiratoire porcin (SRRP) a été détecté aux États-Unis pour la première fois en 1987. Il constitue une des plus importantes maladies sur le plan

économique pour l'industrie du porc en Amérique du Nord. Les vaccins produits jusqu'ici ne permettent pas de bien contrôler la maladie. Une équipe de chercheurs de l'Université du Missouri et du Kansas State University⁴ a travaillé sur la conception d'une espèce de porcs dont la génétique est modifiée à l'aide de la technologie CRISPR/Cas9. Dans les dernières années, les recherches ont suggéré que chez le porc, le récepteur CD163 permettrait l'entrée du virus SRRP. L'équipe avait donc formulé l'hypothèse qu'un porc génétiquement modifié pour ne pas avoir de récepteur CD163 serait immunisé contre le SRRP. Ainsi, les chercheurs ont conçu des porcs avec différentes mutations de l'ADN correspondant au récepteur CD163 (allant de courtes mutations au retrait global du gène). Après avoir injecté le virus SRRP par voie musculaire et nasale aux porcs, l'équipe a montré que les porcs sans récepteur CD163 n'avaient aucun symptôme de la maladie, et on ne notait aucun autre changement dans leur développement.

RÉFÉRENCES :

1. Adapté du *Bulletin de veille Science, Technologie et Innovation* de Mission pour la Science et la Technologie de l'Ambassade de France aux États-Unis, publié le vendredi 18 décembre 2015. En ligne : http://www.france-science.org/La-transgenese-2-0-avec-CRISPR.html?mc_cid=8d640a6d02&mc_eid=68a6722467#nb1
2. Voir l'article « L'outil CRISPR/Cas9 ouvre la voie à la modification génétique de population sauvage », Cellule de veille OGM, n° 39, décembre 2015.
3. YANG, L., et al. (2015). *Genome-wide inactivation of porcine endogenous retroviruses (PERVs)*, *Science* 350 (6264): 1101-1104.
4. WHITWORTH, K.M., et al. (2016). *Gene-edited pigs are protected from porcine reproductive and respiratory syndrome virus*. *Nature Biotechnology* 34(1) :20-22.

CRISPR ET L'INACTIVATION DE COPIES MULTIPLES DE GÈNES CHEZ DES PLANTES CULTIVÉES

En agronomie, le système CRISPR/Cas9 est utilisé depuis quelques années déjà dans plusieurs pays, pour modifier génétiquement *Arabidopsis thaliana*⁵, un modèle majeur en biologie végétale, ainsi que des variétés de riz, de tabac, de blé, de sorgho, de maïs, de tomate, d'orange, etc. La modification simultanée de plusieurs copies de gènes avec CRISPR/Cas9 est particulièrement intéressante, car de nombreuses espèces cultivées ont connu des épisodes de duplication du génome et possèdent plusieurs copies de chaque gène. Une équipe de chercheurs de l'académie chinoise des sciences⁶ a réussi, à l'aide de l'outil CRISPR/Cas9, à inactiver simultanément les différentes copies d'un gène de susceptibilité au mildiou présent trois fois dans le génome d'une variété de blé, ce qui fait six modifications au total (un allèle paternel et un allèle maternel pour chaque gène).

Cette stratégie d'inactivation des gènes de susceptibilité à certaines pathologies permettrait de limiter l'utilisation de fongicides et de pesticides. Si une telle approche n'est pas nouvelle, la facilité relative et la rapidité avec laquelle l'outil CRISPR/Cas9 permet sa mise en place encouragent fortement son développement.

Publié dans la cellule de veille OGM n° 40 de février 2016 et envoyé le 4 mars 2016 aux abonnés. Le texte du bulletin de veille est disponible sur le domaine spécialisé « Biotechnologie moderne et OGM » d'Agri-Réseau à l'adresse suivante : <https://www.agrireseau.net/biotechnologie-moderne-et-ogm/>

ÉDITION DU GÉNOME ET OBTENTION DE PLANTES « ÉDITÉES » IDENTIQUES À DES PLANTES NATURELLES

L'édition de gènes offre la possibilité de modifier des traits essentiels pour stimuler les rendements et la qualité nutritionnelle des cultures vivrières, et pour rendre les plantes plus résistantes aux parasites ou aux conditions climatiques extrêmes.

Des chercheurs chinois et britanniques ont publié en 2015 des résultats démontrant qu'il est possible, pour des espèces de riz⁷ et d'orge⁸, de modifier des gènes grâce à CRISPR/Cas9, d'introduire cet outil au moyen d'un transgène qui ne s'intègre pas au génome et de le voir disparaître dans les générations suivantes. Les plantes « éditées » ainsi produites transmettent la modification génétique à leur descendance et ne présentent aucune trace génétique de cette intervention. Elles ne diffèrent pas des plantes présentant une variation naturelle dans l'un de leurs gènes et soulèvent donc des questions majeures en ce qui a trait à l'applicabilité de certaines réglementations.

Les agences réglementaires doivent se pencher sur la question de savoir si les plantes « éditées », c'est-à-dire celles qui ont été modifiées avec CRISPR/Cas9, doivent être soumises aux mêmes réglementations que les organismes génétiquement modifiés.

RÉFÉRENCES (SUITE) :

5. JIANG, W., et al. (2013). *Demonstration of CRISPR/Cas9/sgRNA-mediated targeted gene modification in Arabidopsis, tobacco, sorghum and rice*. *Nucleic Acids Research* 41(20) : e188.
6. WANG, Y., et al. (2014). *Simultaneous editing of three homoeoalleles in hexaploid bread wheat confers heritable resistance to powdery mildew*. *Nature Biotechnology* 32, p. 947-951.
7. XU, R-F, et al. (2015). *Generation of inheritable and "transgene clean" targeted genome-modified rice in later generations using the CRISPR/Cas9 system*. *Nature Scientific Reports* 5 (article n° 11491). En ligne : <http://www.nature.com/articles/srep11491>
8. LAWRENSEN, T., et al. (2015). *Induction of targeted, heritable mutations in barley and Brassica oleracea using RNA-guided Cas9 nuclease*. *Genome Biology* 16(258):13 pages. En ligne : <http://genomebiology.biomedcentral.com/articles/10.1186/s13059-015-0826-7>

Modification génétiques : le système CRISPR... la suite

Les derniers numéros de cette cellule de veille^{1A} présentaient des développements des méthodes d'édition du génome avec l'outil CRISPR/Cas9^{1B}. Ce système continue d'évoluer de façon constante. Comme le mentionne l'*État des lieux sur la situation du genome editing en Allemagne*², ces techniques de modification du génome sont aujourd'hui utilisées par les scientifiques du monde entier. Elles ont déjà été appliquées avec succès en biotechnologie industrielle ou pour la culture sélective des plantes. Ces techniques de génie génétique peuvent également s'appliquer à l'animal et à l'homme, et ouvrent des perspectives intéressantes pour le traitement de maladies génétiques. Certains groupes de recherche testent déjà les applications cliniques possibles. Toutefois, le transfert à la pratique clinique n'est pas encore envisagé. Pendant ce temps, une discussion sur les risques de l'utilisation de ces techniques et sur les aspects éthiques est commencée.



LES PLANTES PRODUITES À L'AIDE DE CRISPR/CAS9 SONT-ELLES DES OGM?

Actuellement, à l'échelle internationale, il n'est pas clairement établi si les plantes produites par les nouvelles techniques de génie génétique, dont CRISPR/Cas9, doivent être définies comme des OGM au sens des différentes réglementations en la matière puisqu'elles ne sont pas différenciables des plantes cultivées de manière conventionnelle³.

En octobre 2007, la Commission européenne avait mis en place un groupe de travail sur la question des nouvelles technologies d'édition du génome⁴. Elle avait également organisé un atelier, en septembre 2011⁵, au cours duquel on comparait les systèmes réglementaires de l'Argentine, de l'Australie, du Canada, de l'Union européenne, du Japon et de l'Afrique du Sud. Les techniques d'édition du génome alors considérées étaient, par exemple, la mutagenèse dirigée par oligonucléotides, la cisgénèse, les nucléases à doigt de zinc et la technique TALEN (*Transcription Activator-like Effector Nuclease*), puisque CRISPR/Cas9 n'était pas encore d'actualité. L'*European Food Safety Authority* (EFSA) avait considéré que la cisgénèse et la technique de nucléase à doigt de zinc se trouvaient sous les mêmes réglementations que les OGM^{6,7}. Du côté de l'Union européenne, on considère souvent que quelque chose est génétiquement modifié si la modification ne se produit pas par multiplication ou par recombinaison naturelles³.

RÉFÉRENCES :

1. **A.** Voir l'article « L'outil CRISPR/Cas9 ouvre la voie à la modification génétique de population sauvage », Cellule de veille OGM, n° 39, décembre 2015; et l'article « La transgénèse 2.0 avec CRISPR/Cas9 : multiples modifications génétiques et édition du génome sans laisser de trace », *Cellule de veille OGM*, n° 40, février 2016.
1. **B.** Voir la vidéo du fonctionnement du système CRISPR/Cas9 réalisé par le McGovern Institute for Brain Research at MIT. [En ligne] <https://www.youtube.com/watch?v=MnYppmstxIs>.
2. GROJSMAN, R. (2016). État des lieux sur la situation du « genome editing » en Allemagne. Service pour la science et la technologie de l'Ambassade de France à Berlin. 6 pages. Février. [En ligne] <http://www.science-allemande.fr/fr/wp-content/uploads/2016/03/Rapport-Rebecca-G-genome-editing-en-Allemagne-1.pdf>
3. JONES, H. D. (2015). *Regulatory uncertainty over genome editing*. *Nature Plants* (1) : 3 pages. Article no 14011 | DOI: 10.1038/NPLANTS.2014.11.
4. EUROPEAN COMMISSION. *New plant breeding techniques*. [En ligne] http://ec.europa.eu/food/plant/gmo/legislation/plant_breeding/index_en.htm
5. JRC-IPTS. *Comparative regulatory approaches for new plant breeding techniques – Workshop Proceedings*. [En ligne] <http://ftp.jrc.es/EURdoc/JRC63971.pdf>
6. http://www.efsa.europa.eu/sites/default/files/scientific_output/files/main_documents/2561.pdf
7. http://www.efsa.europa.eu/sites/default/files/scientific_output/files/main_documents/2943.pdf

Jusqu'à maintenant, le Département de l'agriculture américain avait conclu que, si on ne pouvait distinguer une modification d'une mutation d'origine naturelle, il n'était pas nécessaire que la plante fasse l'objet d'une réglementation spécifique. Ainsi, plusieurs plantes réalisées avec des techniques d'édition du génome ont été approuvées, dont le canola Cibus SUTM⁸, qui présente une tolérance accrue aux herbicides à base de sulfonylurés et mis au point par mutagenèse dirigée par oligonucléotides. En Europe, le canola Cibus SUTM fait l'objet d'un flou réglementaire⁹. À la fin de 2013, Santé Canada l'a pour sa part approuvé¹⁰.

Devrait-il en être autrement pour les plantes conçues avec le système CRISPR/Cas9? Le Conseil suédois de l'agriculture a, en novembre 2015, indiqué que, selon son interprétation, les plantes dont le génome a été modifié par l'utilisation de la technologie CRISPR/Cas9 ne tombent pas sous la définition européenne des OGM. Même son de cloche pour l'Académie nationale des sciences Leopoldina, pour l'Académie allemande des technologies Acatech et pour l'Union des académies scientifiques allemandes, qui suggèrent que l'évaluation des risques soit basée sur les caractéristiques spécifiques des nouvelles plantes, et non sur leur méthode de production. Aux États-Unis, en avril 2016, un premier champignon modifié par CRISPR/Cas9 a été déréglementé afin qu'il soit autorisé à la commercialisation¹¹. Ce champignon blanc commun (*Agaricus bisporus*) résistant au brunissement est donc la première plante modifiée génétiquement par ce système à être autorisée. Le fait que ce champignon modifié génétiquement ne contient aucun ADN étranger est à la base de cette décision.

CRISPR/Cas9 évolue...

Pendant que les agences réglementaires évaluent si les plantes produites avec la technologie CRISPR/Cas9 sont des OGM, la Fondation Gairdner annonçait, à la fin mars 2016, les lauréats des Prix Canada Gairdner 2016¹². Ces prix reconnaissent des découvertes importantes en sciences biomédicales. Parmi les lauréats se retrouvent ceux qui ont établi et caractérisé le système de défense immunitaire bactérien CRISPR/Cas, le Dr Rodolphe Barrangou, de l'Université d'État de la Caroline du Nord, et le Dr Philippe Horvath, scientifique principal chez Dupont, de même que ceux qui ont mis au point le système CRISPR/Cas comme outil d'édition génomique pour les cellules eucaryotes, la D^{re} Emmanuelle Charpentier, de l'Institut Max Planck de biologie des infections, la D^{re} Jennifer Doudna, de l'Université de Berkeley, et le Dr Feng Zhang, de l'Institut des technologies du Massachusetts (MIT).

Sylvain Moineau, professeur au Département de biochimie, microbiologie et bio-informatique de la Faculté des sciences et génie de l'Université Laval, a contribué à mettre en lumière le fonctionnement de ce moyen de défense bactérien. Il travaillait alors avec des collaborateurs français et américains sur la bactérie *Streptococcus thermophilus* qui est utilisée pour la fermentation du yogourt et du fromage.

RÉFÉRENCES (suite) :

8. <http://www.cibus.com/products.php>
9. FLADUNG, M. (2016). *Cibus' herbicide-resistant canola in European limbo*. *Nature Biotechnology* 34(5) :473-474.
10. <http://www.hc-sc.gc.ca/fn-an/gmf-agm/appro/canola-5715-fra.php>
11. WALTZ, E. (2016). *Gene-edited CRISPR mushroom escapes US regulation*. *Nature* 532 (7599) :293. In Focus News. April, 21. En ligne : <http://www.nature.com/news/gene-edited-crispr-mushroom-escapes-us-regulation-1.19754>
12. http://www.gairdner.org/sites/default/files/press/2016_canada_gairdner_awards_media_release_-_final_-_embargoed_-_march_23_-_745_am_est_fr-ca.pdf

Par ailleurs, la compagnie DuPont Pioneer annonçait, dans une lettre publique diffusée le 18 avril 2016¹³, que des hybrides de maïs cireux seront les premiers produits agricoles mis au point par l'application de CRISPR/Cas à être commercialisés par la compagnie. Cette nouvelle génération d'hybrides élites de maïs cireux devrait être disponible pour les producteurs américains d'ici cinq ans, au terme des essais sur le terrain et des examens réglementaires.

Également en avril 2016, des chercheurs du Centre Helmholtz et de l'Institut Max Planck, de l'Université d'Umea, en Suède, ont découvert un mécanisme de défense immunitaire de certaines bactéries encore plus simple que CRISPR/Cas9 : le CRISPR/Cpf1¹⁴. Leurs travaux font l'objet d'une publication dans la revue *Nature*¹⁵. Le système CRISPR/Cas9 permet aux bactéries de se défendre contre les virus : l'enzyme Cas9 découpe l'ADN viral à une position déterminée par deux molécules d'ARN, nommées « CRISPR RNA » (crRNA) et « tracrRNA ». Certaines bactéries utilisent une autre enzyme, appelée Cpf1, afin de sectionner l'ADN étranger. Cpf1 possède une caractéristique unique jusqu'à présent dans la famille d'enzymes Cas : elle coupe aussi bien l'ARN que l'ADN. De plus, le système CRISPR/Cpf1 est plus simple que le système CRISPR/Cas9 : il ne nécessite aucune molécule supplémentaire pour transformer le pre-crRNA en crRNA. En outre, l'enzyme Cpf1 n'est guidée jusqu'à sa cible que par le crRNA, sans l'aide d'une molécule de tracrRNA. CRISPR/Cpf1 serait ainsi le système le plus

minimaliste de cette famille décrit jusqu'à présent. Cependant, il n'est pas encore établi si CRISPR/Cpf1 présente un réel avantage par rapport à CRISPR/Cas9 en tant qu'outil pour la modification génétique. À cet effet, les chercheurs continuent à étudier les autres systèmes de défense immunitaire des bactéries¹⁶.

En parallèle, en avril 2016, des chercheurs de l'Université Harvard publiaient dans *Nature* un article sur une technique à base du système CRISPR qui corrige efficacement les mutations ponctuelles sans cliver l'ADN et en éditant des « lettres » simples du code de l'ADN¹⁷. Pour leur part, en mai 2016, des chercheurs de l'Université de Californie publiaient dans *Science*¹⁸ les résultats de leurs travaux sur une technique basée sur CRISPR/Cas9 pour orienter la recombinaison des chromosomes, permettant une cartographie génétique à haute résolution des caractères phénotypiques de la levure *Saccharomyces cerevisiae*.

Le 8 juin 2016, la *National Academy Press* américaine publiait un rapport sur les technologies d'édition du génome intitulé *Gene Drives on the Horizon : Advancing Science, Navigating Uncertainty, and Aligning Research with Public Values*¹⁹. Selon ce rapport, les organismes modifiés par ces technologies ne sont pas prêts à être libérés dans l'environnement et nécessitent d'autres essais en laboratoire et aux champs en conditions confinées. Une analyse plus complète de ce rapport sera publiée dans le prochain bulletin de la cellule de veille OGM.

RÉFÉRENCES (suite) :

13. DuPont Pioneer Announces Intentions to Commercialize First CRISPR-Cas Product. 18 avril 2016, Johnston, Iowa. [En ligne] <https://www.pioneer.com/home/site/about/news-media/news-releases/template.CONTENT/guid.1DB8FB71-1117-9A56-E0B6-3EA6F85AAE92>
14. *Cpf1: CRISPR-enzyme scissors cutting both RNA and DNA*. Communiqué de presse de la Société Max Planck. 20 avril 2016. [En ligne] https://www.mpg.de/10464388/crispr-cpf1-gene-editing?filter_order=L&month=4&research_topic=&year=2016
15. FONFARA, I. et al., (2016) *The CRISPR-associated DNA-cleaving enzyme Cpf1 also processes precursor CRISPR RNA*. *Nature* 532 : 517-521. En ligne : <http://www.nature.com/nature/journal/v532/n7600/full/nature17945.html#affil-auth>
16. Adapté de « Modifications génétiques : le système CRISPR-Cpf1 modifie l'ARN aussi bien que l'ADN ». Portail pour la Science de l'Ambassade de France en Allemagne. 20 mai 2016. <http://www.diplomatie.gouv.fr/fr/politique-etrangere-de-la-france/diplomatie-scientifique/veille-scientifique-et-technologique/allemande/article/modifications-genetiques-le-systeme-crispr-cpf1-modifie-l-arn-aussi-bien-que-l>
17. KOMOR, A.C. et al. (2016). *Programmable editing of a target base in genomic DNA without double-stranded DNA cleavage*. *Nature* 533 : 420-424.
18. SADHU, M. J. et al. (2016). *CRISPR-directed mitotic recombination enables genetic mapping without crosses*. *Science* 05 May 2016. DOI: 10.1126/science.aaf5124
19. THE NATIONAL ACADEMIES OF SCIENCES, ENGINEERING AND MEDICINE (2016). *Gene Drives on the Horizon: Advancing Science, Navigating Uncertainty, and Aligning Research with Public Values*. Expert Report. June 8th. [En ligne] <http://dels.nas.edu/Report/Gene-Drives-Horizon-Advancing/23405?bname=bls>.

L'ÉDITION DE GÉNOME CHEZ LES ANIMAUX

En utilisant la technique TALEN (*Transcription Activator-Like Effector Nuclease*), les chercheurs de Recombinetics, une société de biotechnologie basée au Minnesota qui met au point des technologies génétiques pour l'agriculture et la biomédecine, ont inséré un allèle du gène *POLLED* dans le génome de fibroblastes d'embryons de bovins. Ils ont ensuite utilisé le transfert nucléaire de cellules somatiques pour cloner les lignées de cellules GM et implanter les embryons dans la vache/mère porteuse. Cinq veaux sont nés, dont deux sont encore en vie, Spotigy et Buri, qui sont maintenant âgés de 10 mois. Aucun des veaux n'avait de bourgeons de corne, ce qui suggère que la manipulation génétique a fonctionné, selon une lettre publiée le 6 mai 2016 dans *Nature Biotechnology*²⁰. En introduisant cet allèle qui élimine le « trait cornu »,

les chercheurs permettraient d'éviter l'écornage des vaches laitières, une opération réalisée pour la sécurité des animaux et pour celle de leurs maîtres. Le « sans corne » (connu sous le nom *polled*) est un trait commun chez les bovins de boucherie, mais rare chez les bovins laitiers. La sélection classique pourrait théoriquement concevoir des bovins laitiers sans cornes, mais il faudrait des décennies, avec des caractéristiques de la production laitière potentiellement compromises dans le processus. Selon les chercheurs, pour une question de bien-être animal, ces veaux représentent une nouvelle voie à suivre, faisant appel aux technologies d'édition de gènes, comme le TALEN, dans la suite sans cesse croissante des outils CRISPR/Cas pour l'élevage de bovins laitiers sans cornes. Cette avenue est d'autant plus prometteuse que les chercheurs n'ont noté aucun effet secondaire pour l'animal.

RÉFÉRENCES (suite) :

20. Carlson, D. F. et al. (2016). *Production of hornless dairy cattle from genome-edited cell lines.* *Nature Biotechnology* 34 : 479-481.

Publié dans la cellule de veille OGM n° 42 de juin 2016 et envoyé le 28 juin 2016 aux abonnés. Le texte du bulletin de veille est disponible sur le domaine spécialisé « Biotechnologie moderne et OGM » d'Agri-Réseau à l'adresse suivante : <https://www.agrireseau.net/biotechnologie-moderne-et-ogm/>

Pour de plus amples renseignements sur le contenu de ce bulletin ou pour transmettre des informations ou des commentaires, vous pouvez vous adresser à :

Madame France Brunelle, biochimiste Ph. D.

Conseillère scientifique expert en biotechnologie

Direction de l'appui à la recherche et à l'innovation

200, chemin Sainte-Foy, 10^e étage, Québec (Québec) G1R 4X6

☎ 418 380-2100, poste 3196

📠 418 380-2162

✉ france.brunelle@mapaq.gouv.qc.ca

Ce bulletin est destiné aux membres de la cellule de veille OGM et ne peut être diffusé sans l'autorisation préalable des auteurs.

SOYEZ DES NÔTRES À LA PROCHAINE