

## L'ENVOL DU VER À SOIE TRANSGÉNIQUE DANS LE CHAMP DES BIOTECHNOLOGIES

Enjeux en recherche fondamentale et appliquée

par Corinne Royer<sup>1</sup>

La transgénèse germinale consiste en l'intégration au sein du génome de l'organisme cible ainsi qu'à celui de sa descendance d'un fragment d'ADN étranger ou transgène.

Chez les insectes la première transformation génétique, médiée par l'élément génétique mobile P, a été réalisée en 1982 chez la drosophile. Cette méthode n'a cependant pas pu être étendue à d'autres genres en raison de la non-fonctionnalité de P chez les espèces non-drosophiliennes. De plus, malgré la découverte de nouveaux transposons elle est longtemps restée cantonnée à l'ordre des Diptères.

C'est en 2000, après une dizaine d'années de recherche intense que l'obtention de la transgénèse du ver à soie domestique du mûrier, *Bombyx mori* a permis d'étendre le concept à l'ordre des Lépidoptères. Cette réussite est la conséquence de la mobilisation efficace dans les cellules germinales de l'hôte de l'élément transposable piggyBac. La méthodologie de transformation consiste en la microinjection d'œufs en position médiane côté ventral (site de différenciation des précurseurs germinaux) par un couple de vecteurs dérivés du transposon piggyBac : un vecteur recombinant véhiculant un gène d'intérêt associé à une cassette de sélection constituée d'une séquence codant une protéine fluorescente (GFP\*<sup>1</sup> ou RFP\*<sup>2</sup>) sous le contrôle d'un promoteur spécifique des yeux et un vecteur assistant non autonome comportant une transposase active placée sous le contrôle du promoteur fort et ubiquiste de l'actine cytoplasmique A3 de *Bombyx*. Ainsi les vers à soie transgéniques chez lesquels sera recherché le produit du transgène sont repérés par leur capacité à exprimer dans des conditions particulières une fluorescence verte ou rouge dans les ocelles (larves) ou les yeux (papillons).

Ce protocole qui aboutit à l'insertion aléatoire du gène dans le patrimoine génétique de l'hôte qui le transmet de façon stable à sa descendance est efficace (les taux de transformation peuvent atteindre 10%) et extrêmement fiable (aucune modification de l'expression ou de la structure des transgènes lors de l'évènement initial d'insertion et au cours des générations).

Concernant la définition des biotechnologies, une définition proposée par l'OCDE\*<sup>3</sup> a été retenue ici, à savoir : « *les biotechnologies sont l'application de la science et de la technologie à des organismes vivants, de même qu'à ses composantes, produits et modélisations, pour modifier des matériaux vivants ou non vivants aux fins de la production de connaissances, de biens et de services* ».

Ainsi, si l'on s'en réfère à cette définition le succès de la transformation du ver à soie associé à son statut unique d'insecte domestique inféodé à l'homme a ouvert de nouvelles perspectives pour l'utilisation de cet insecte dans le champ des biotechnologies que ce soit dans des projets à visée fondamentale ou à visée appliquée.

Dans le domaine appliqué les voies qui sont en développement sont les suivantes :

---

<sup>1</sup> Chargée de recherche, UPR 921 Unité nationale séricicole, INRA, 69350 La Mulatière.

– la production de protéines recombinantes d'intérêt pour le secteur biomédical. Le principe est d'exploiter le potentiel protéo-synthétique de la glande séricigène (organe producteur de soie) de la chenille, pour produire dans le cocon des polypeptides étrangers à activité thérapeutique (eg facteurs de croissance...).

– la création de biomatériaux innovants ou « soies bioactives » : le challenge est de produire des matrices de soie (eg gel, film, éponge...) fonctionnalisées par greffage *in vivo* de peptides biologiquement actifs (eg peptides antibactériens, peptides d'adhésion cellulaire...). L'application de tels biomatériaux est multiple et concerne le champ des « pansements intelligents » et de la « régénération tissulaire » (eg peau, os, tendon...).

– la production de fibres textiles nouvelles présentant des propriétés mécaniques (résistance, élasticité) originales (eg soie d'araignée).

– l'induction de résistances à des pathogènes du ver à soie dont l'élevage intensif favorise la dissémination de bactéries ou de virus entraînant des pertes souvent importantes pour le sériciculteur. Ainsi des vers à soie transgéniques résistants au baculovirus ont été créés.

Dans le domaine fondamental, la transgénèse est une base méthodologique essentielle à la compréhension du fonctionnement du génome. En autorisant le franchissement de la barrière d'espèce et tissulaire elle permet l'analyse de l'expression d'un gène homologue ou hétérologue dans un tissu ou un organisme entier dans lequel il est naturellement silencieux ou absent. L'intérêt du ver à soie réside dans sa valeur de modèle biologique (en génétique, physiologie...) et de référence (génome séquencé et annoté) pour les lépidoptères d'impact agronomique chez lesquels la transgénèse n'est pas encore disponible. Ainsi par l'intermédiaire du *Bombyx* on pourra explorer *in vivo* chez les espèces concernées (eg noctuelles...) le rôle inconnu de gènes impliqués dans de grandes fonctions biologiques (eg olfaction, immunité...). Ces connaissances permettront l'identification de nouvelles cibles pour lutter contre les ravageurs des cultures.

Par l'apport de molécules étrangères dans la glande séricigène, la transgénèse pourrait permettre aussi des avancées dans la compréhension de l'organisation moléculaire des protéines de la soie.

La transgénèse aléatoire véhiculée par le transposon piggyBac a offert au ver à soie une émergence nouvelle sur la route des biotechnologies. Le développement de cette voie, la seule disponible en routine actuellement, est intéressante et peut apporter des solutions originales à des problématiques définies. Cependant elle présente des faiblesses (expression du transgène mal maîtrisée par exemple) difficiles à contourner rapidement.

La transgénèse ciblée (recombinaison homologue) en permettant, via l'utilisation de systèmes originaux, une intégration du transgène d'intérêt dans un endroit prédéfini du génome apparaît beaucoup plus prometteuse. C'est la réussite de cette étape actuellement en pleine investigation qui, en apportant une dimension supplémentaire, assurera à cet insecte une place de choix dans un secteur en pleine expansion et certes fortement concurrentiel mais sans cesse à la recherche de modèles biologiques performants et de technologies innovantes.

---

\*<sup>1</sup> *Green Fluorescent Protein*

\*<sup>2</sup> *Red Fluorescent Protein*

\*<sup>3</sup> Organisation de Coopération et de Développement économiques