L'édition du génome peut-elle aider à combattre les insectes nuisibles ? du knock-out au *gene drive*

Emmanuelle Jacquin-Joly
Directrice de Recherche INRA, Versailles
emmanuelle.joly@inra.fr

iEES Paris

@web

1 – Diversité des insectes, un obstacle à la manipulation du génome

2 – L'édition du génome:
une révolution récente chez les insectes

3 – Ce qu'il est possible de faire et exemples d'utilisation

5 – Enjeux, risques et régulation

@web

Les insectes:
70 % de la biodiversité connue du règne animal

~1M d'espèces décrites sur 3 à 30M d'espèces d'insectes estimés

http://www.statistiques.developpement-durable.gouv.fr/lessentiel/ar/259/1115/insectes.html

@web

La biomasse des fourmis sur terre est supérieure à celle des humains….

Des insectes et des hommes

ravageurs (agriculture, sylviculture)

vecteurs de pathogènes, allergènes (agriculture, santé animale/humaine)

Envahisseurs (frelon/coccinelle asiatique)

utiles (pollinisateurs, parasitoïdes, détritivores, producteurs)

protégés

https://www.larousse.fr/encyclopedie/images/Insectes/1314119

Les insectes sont responsables de la perte de 20 à 30% de la production agricole mondiale

@web

@web

Dans certains pays, certaines années: 100% de pertes….

Le réchauffement favorise le ravage des récoltes par les insectes nuisibles

Deutsch *et al.*, *Science* **361**, 916–919 (2018) 31 August 2018

CLIMATE CHANGE

Increase in crop losses to insect pests in a warming climate

Curtis A. Deutsch[1,2]*†, Joshua J. Tewksbury[3,4,5]†, Michelle Tigchelaar[6], David S. Battisti[6], Scott C. Merrill[7], Raymond B. Huey[2], Rosamond L. Naylor[8]

Estimation: les insectes mangeront 10-25% de plus de blé, riz, maïs à travers le monde pour chaque degré de réchauffement

@web

La lutte contre les insectes ravageurs: un enjeu majeur pour la sécurité alimentaire de demain

Tout en souhaitant limiter les insecticides (toxicité, résistance ….)

@web

Mais manque d'alternatives!

Les modifications génétiques des insectes pourraient elles constituer une alternative ou un complément aux plantes génétiquement modifiées (résistantes à des insectes: toxines Bt, plantes RNAi)?

Un lent développement des outils pour une transformation héritable, restreint à quelques espèces modèles

les premiers insectes transgéniques, des drosophiles
à partir de 1982 et par éléments transposables
Rubin & Spradling (1982) Science 218, 348–353

http://actonextermination.ca/portfolio-view/drosophile/

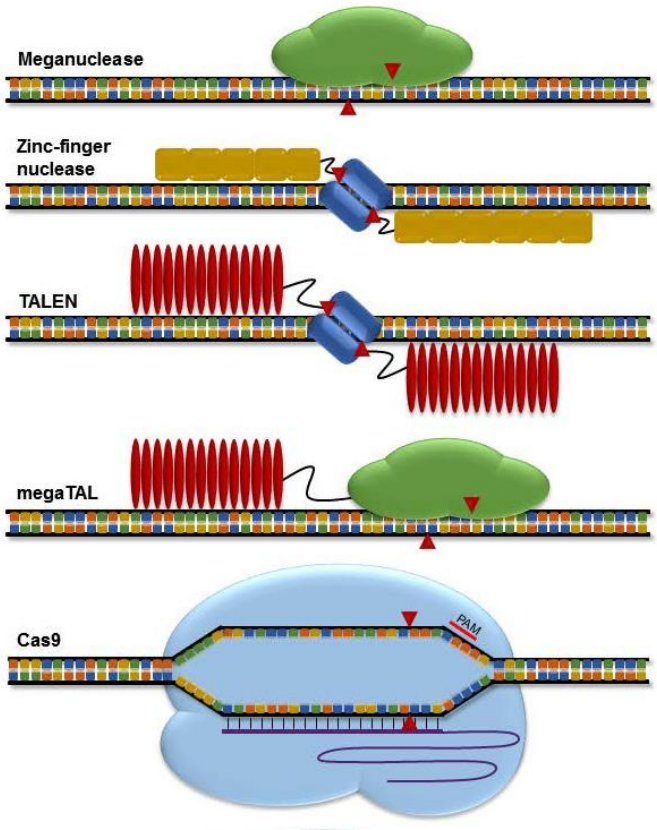
Mais insertion aléatoire et souvent peu efficace en dehors des diptères…..

Nature Biotech 2000

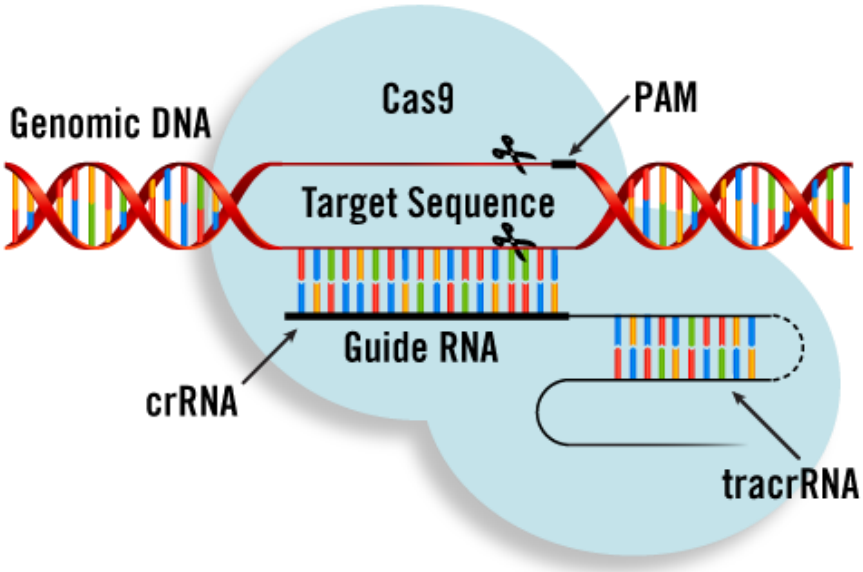
Germline transformation of the silkworm *Bombyx mori* L. using a *piggyBac* transposon-derived vector

Tamura Toshiki[1], Thibert Chantal[2], Royer Corinne[3], Kanda Toshio[1], Abraham Eappen[1], Kamba Mari[1], Kômoto Natuo[1], Thomas Jean-Luc[3], Mauchamp Bernard[3], Chavancy Gérard[3], Shirk Paul[4], Fraser Malcolm[5], Prudhomme Jean-Claude[2], and Couble Pierre[2*]

ZFN, TALEN, CRISPR-Cas9
Plus de transposon



@web



- simplicité: synthèse d'ARN
- rapidité de mise en œuvre:
- pas de dessin et de production de grosses protéines nécessaires
- Prix compétitif
- Multiplexage possible

L'édition du génome : une révolution (récente) pour la transformation des insectes

@Inra

Targeted mutagenesis in the silkworm *Bombyx mori* using zinc finger nuclease mRNA injection

Yoko Takasu [a,b], Isao Kobayashi [b], Kelly Beumer [c], Keiro Uchino [b], Hideki Sezutsu [b], Suresh Sajwan [a], Dana Carroll [c], Toshiki Tamura [b], Michal Zurovec [a,*]

IBMB 2010

The CRISPR/Cas System mediates efficient genome engineering in *Bombyx mori*

Cell Research (2013) **23**:1414-1416. doi:10.1038/cr.2013.146; published online 29 October 2013

@web

nature COMMUNICATIONS

Received 25 Dec 2014 | Accepted 29 Jul 2015 | Published 10 Sep 2015 DOI: 10.1038/ncomms9212 OPEN

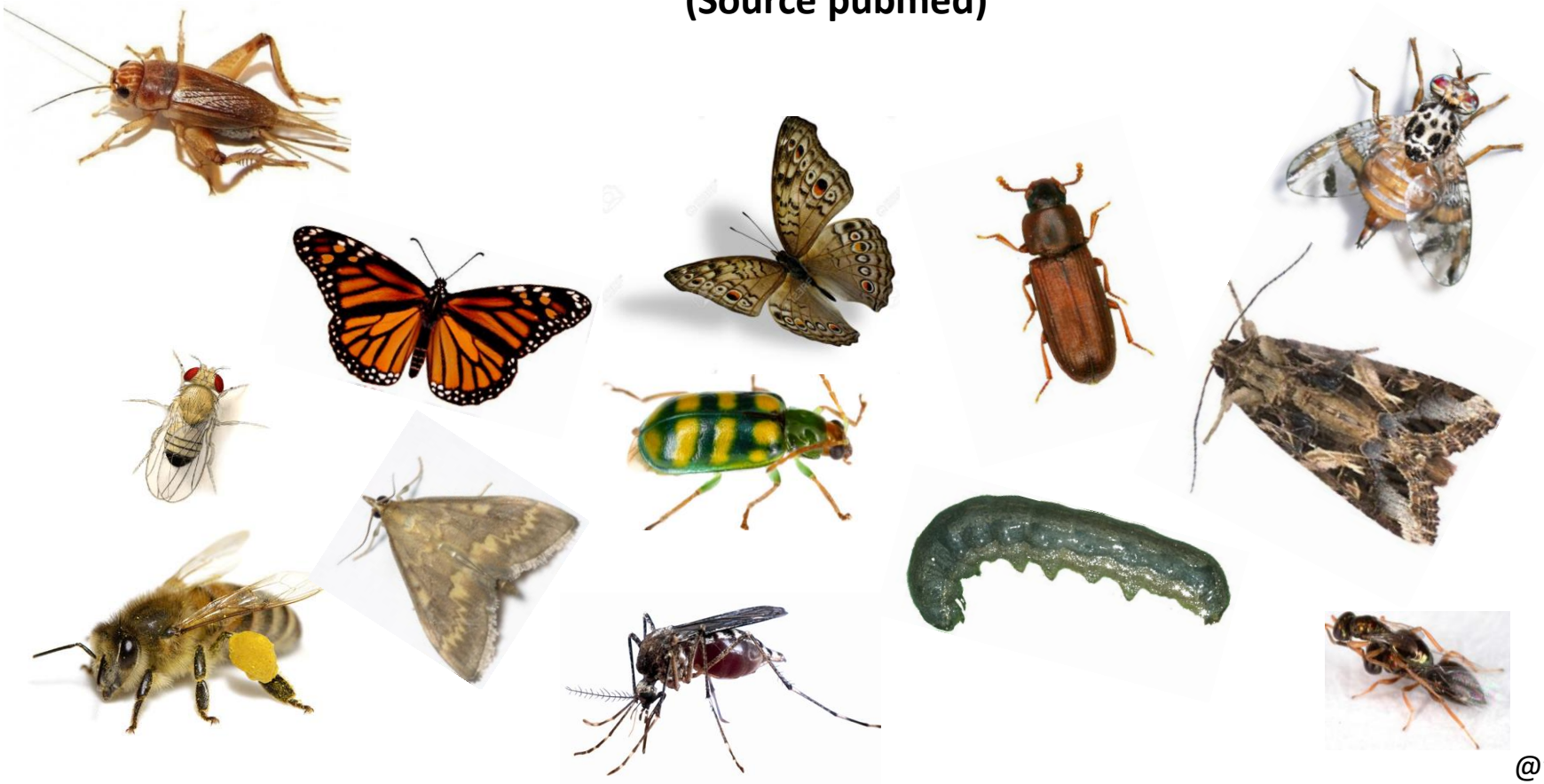
Outbred genome sequencing and CRISPR/Cas9 gene editing in butterflies

CRISPR: l'édition du génome se répand chez tous les métazoaires

MIT Technology Review "CRISPR: the biggest biotech discovery of the century."

Aujourd'hui, bien au delà des espèces modèles: ~50 espèces d'insectes éditées par CRISPR-Cas9

(Source pubmed)



@web

Pourquoi ce succès?
Un contexte génomique propice

18 MARCH 2011 VOL 331 **SCIENCE**

LETTERS

edited by Jennifer Sills

Creating a Buzz About Insect Genomes

i5k

Aujourd'hui

304 génomes d'Arthropodes dans les databases publiques (dec 2017) dont 1/3 de Diptères (drosophile, moustiques)

Richards et al 2018 Current opinion in Insect Science

APHIDBASE
THE APHID GENOME DATABASE

FlyBase

lepbase.org

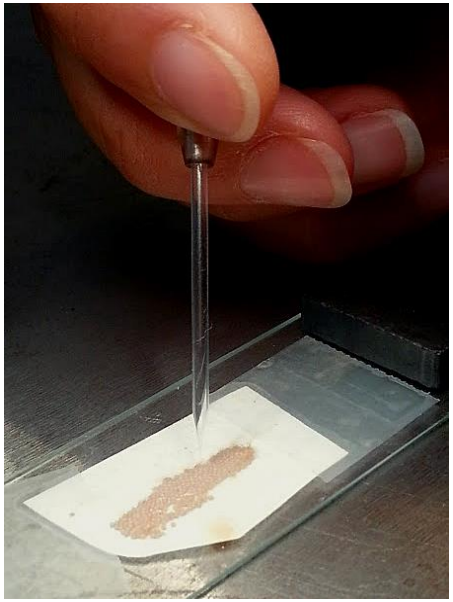
BeetleBase
Tribolium castaneum

VectorBase
Bioinformatics Resource for Invertebrate Vectors of Human Pathogens

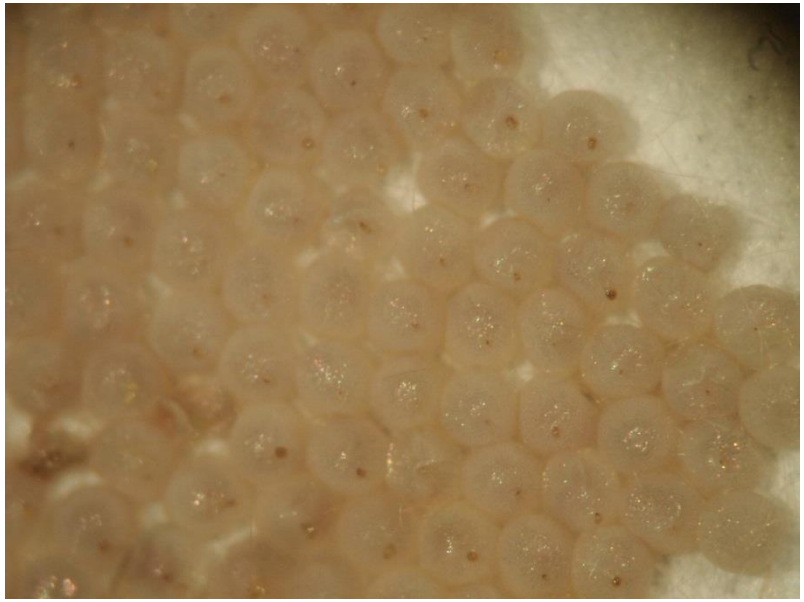
Facilité de mise en œuvre chez les insectes

injection de Cas9 + guide ARN dans des embryons précoces (syncytium)

http://mol-biol4masters.masters.grkraj.org/html/Developmental_Biology1-Drosophila.htm



@Inra



@Inra

Puis génotypage, séquençage, phénotypage nécessaires….

Mais des prérequis

Accès aux œufs

Œufs abondants

Élevage en laboratoire aisé

Temps de génération court

@web

Insectes vivipares

@web

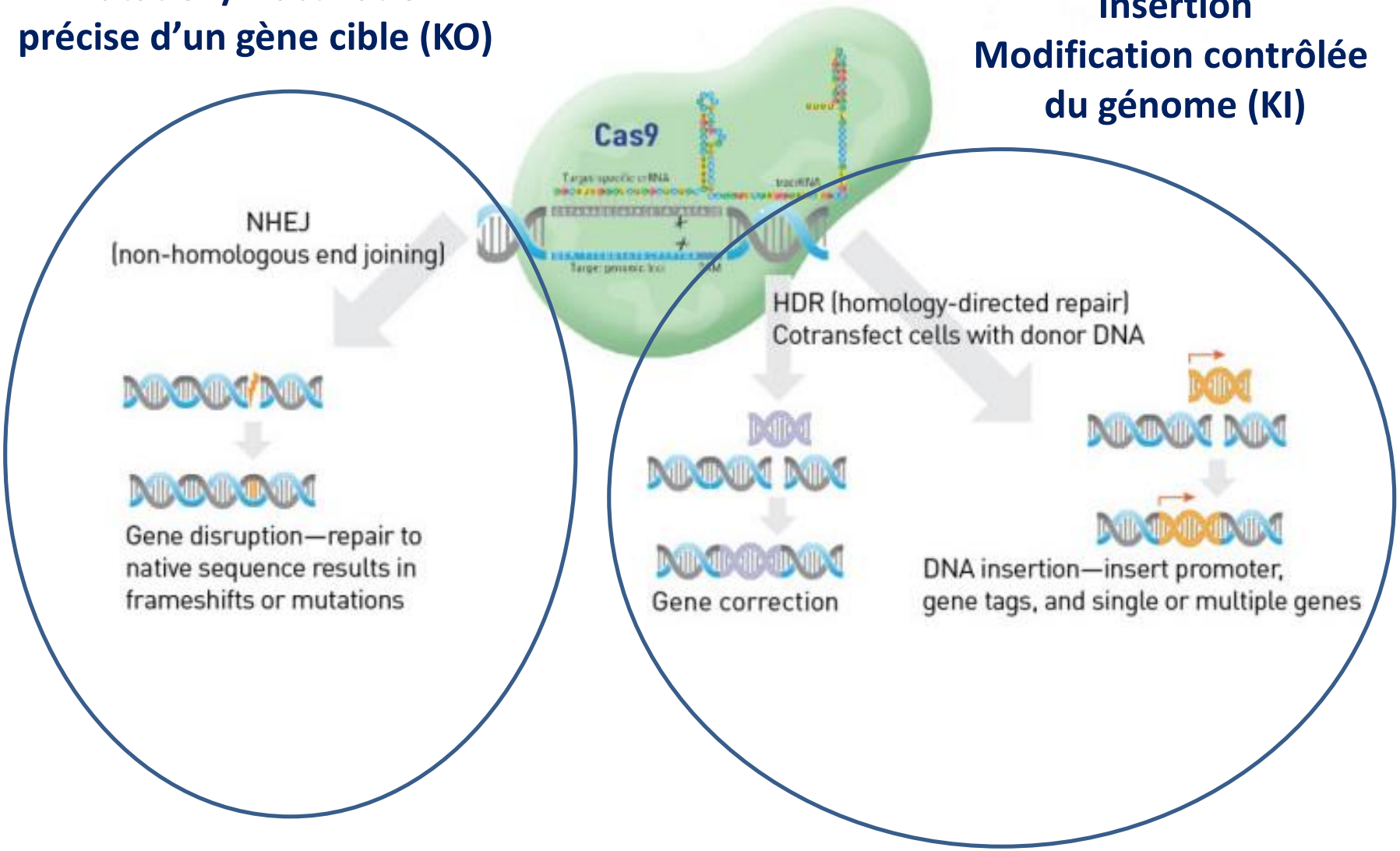
Insectes sociaux

Que peut on faire?
Deux grands types de modifications

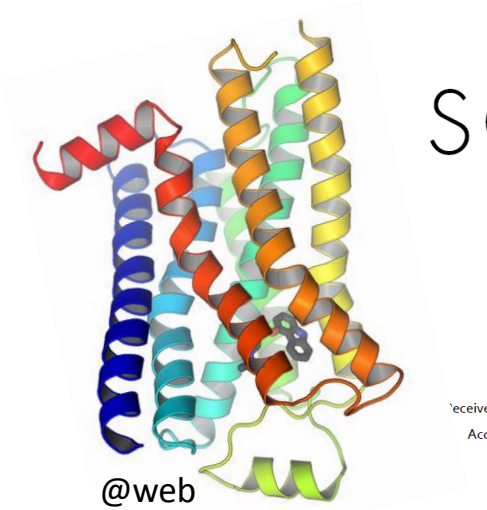
Mutation/inactivation précise d'un gène cible (KO)

@web

Insertion Modification contrôlée du génome (KI)



Exemple de KO
Etude de la fonction d'un gène majeur de l'olfaction d'un papillon ravageur par KO



@web

2016

SCIENTIFIC REPORTS

OPEN

Heritable genome editing with CRISPR/Cas9 induces anosmia in a crop pest moth

Received: 25 February 2016
Accepted: 17 June 2016

Fotini A. Koutroumpa[1,*], Christelle Monsempes[1,*], Marie-Christine François[1], Anne de Cian[2], Corinne Royer[3,4], Jean-Paul Concordet[2] & Emmanuelle Jacquin-Joly[1]

@Inra

Biocontôle: modifier la perception sensorielle des ravageurs par l'identification de nouvelles cibles

Exemple de KI:
Production de biomatériaux par le Bombyx

PNAS 2018

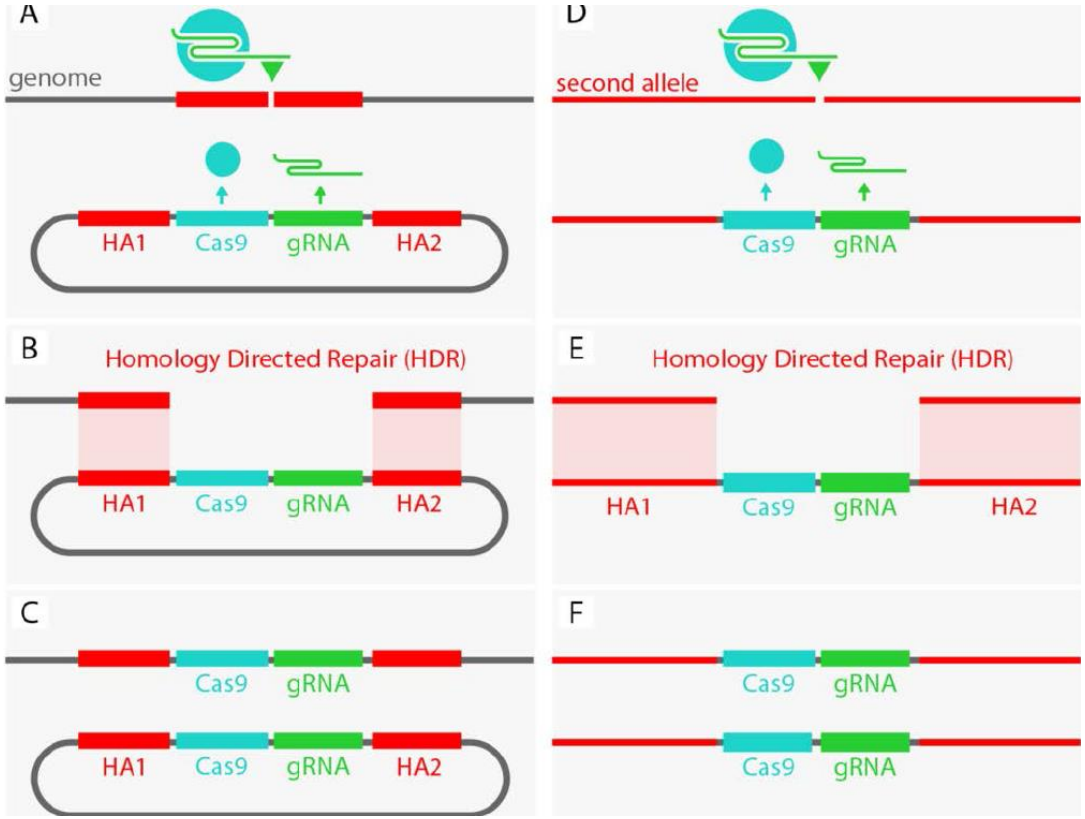
Mass spider silk production through targeted gene replacement in *Bombyx mori*

Jun Xu[a,1], Qinglin Dong[b,1], Ye Yu[a], Baolong Niu[c], Dongfeng Ji[c], Muwang Li[d], Yongping Huang[a], Xin Chen[b], and Anjiang Tan[a,2]

https://whatnext.pl/genetycznie-modyfikowane-jedwabniki-sposobem-na-masowa-produkcje-sieci/

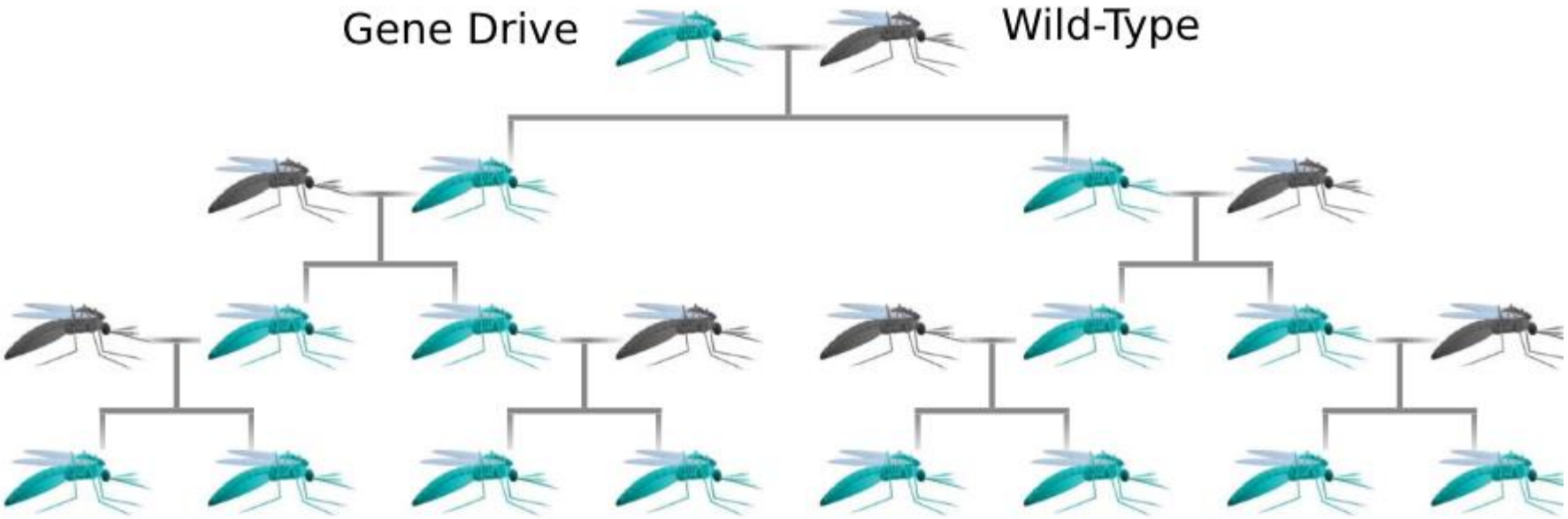
Exemple de KI:
Forçage génétique ou « gene drive »

Convertion autocatalytique du deuxième allèle: Heterozygote ➡ homozygote



Gantz & Bier 2015 Science

Un dispositif génétique sans précédent qui s'auto-réplique lui-même



From eLife 2014;10.7554/eLife.03401

- Défie les lois mendeliennes de l'hérédité
- Capable d'introduire rapidement un transgène dans une population

Appliqué chez les moustiques depuis 2015 (labo, cages extérieures)

Gantz 2015. Science. 2015; 348(6233):442–4

Exemple de gene drive chez un ravageur

Optimisation de système *MEDEA* chez *Drosophila suzukii*

Une alternative à la technique de l'insecte stérile

Médée par Delacroix

PNAS 2018

Synthetically engineered *Medea* gene drive system in the worldwide crop pest *Drosophila suzukii*

Anna Buchman[a,b,c], John M. Marshall[d], Dennis Ostrovski[a,b], Ting Yang[a,b,c], and Omar S. Akbari[a,b,c,e,1]

@web

Espèce invasive venue du Japon

100% de transformation en 19 générations

Applications possibles envisagées

Des outils de connaissance: fonction des gènes?

Mutations ➡ **Knock-out (KO): extinction d'un gène**

Knock-in (KI): introduction d'un marqueur, d'un nouveau gène, remplacement de gène…

Comprendre des mécanismes comme les résistances, l'immunité, l'odorat….

-> identification de nouvelles cibles

Mutations ponctuelles

➡ **réparation d'une mutation (annulation/création de résistance, introduction d'un polymorphisme avantageux)**

amélioration de certains traits (parasitoïdes, abeilles, insectes alimentaires)

Répandre une mutation rapidement dans une population

➡ ***Gene drive* (possible chez organismes à reproduction sexuée):**

maitrise des populations (extinction par un gène létal, diminution par biais de la sex-ratio…)

Quelle réglementation?

Le débat des OGE
Des instances d'analyse et d'évaluation des coûts/bénéfices/risques
Haut Conseil des Biotechnologies
Mais les techniques évoluent vites!

L'arrêt du 25 Juillet 2018 de la Cour de Justice de l'Union Européenne:
Organismes obtenus après « genome editing »: classés comme OGM en Europe, quels qu'ils soient
Alors que la réglementation européenne ne considère pas comme OGM les organismes mutés par voie chimique ou par rayonnement
Certaines de ces modifications ciblées équivalent à une mutation ou à un remplacement d'allèle par un autre, sans introduction d'ADN étranger dans le génome

GD soumis à la législation européenne du génie génétique

En parallèle: les Etats-Unis et surtout l'Asie (Chine, Corée) investissent massivement dans l'édition du génome!
Autorisations analysées au cas par cas

Enjeux et éthique

« CRISPR-Cas9 : un scalpel génomique à double tranchant »
(Jean-Claude Kaplan - SPS n°320, avril 2017)

De formidables outils de laboratoire, -
Mais de réelles inquiétudes:

@Inra

➡ échappement
(**petits et volants**!)
->confinement

➡ gene drive:
un système efficace et durable?
Peu de recul!

Polymorphisme des populations
développement de résistance

Adult female mosquitoes modified by gene drives to be infertile.

GENETICS

Gene drives meet the resistance

Evolution could weaken technique's potential in the wild.

Enjeux et éthique du gene drive

Enjeux sanitaires et écologiques
-usage abusif du « gene drive »? (armes biologiques)
-quelles conséquences de l'élimination ou la réduction d'ūne population sur un écosystème?
-des organismes susceptibles de se **disséminer** de manière incontrôlée dans de vastes espaces, pays voisins
-quid du **transfert** entre espèces ?
Le transfert de gènes s'opère naturellement chez les insectes

Enjeux politiques, économiques, idéologiques et sociétaux
Qui poursuit quoi et dans quel but?
peut on éditer la nature et transformer des écosystèmes à l'avantage de l'espèce humaine?

Et qu’est ce qu’un « nuisible », si ce n’est qu’au regard de l’homme?

@ Renou iEES-Paris

Conclusion:

L’édition du génome: une des plus grandes **innovations** biotechnologiques de notre siècle

Crucial de bien comprendre les **risques et** de les hierachiser

Un **débat éthique** public urgent

Prendre conscience que l’édition du génome conditionnera notre **futur environnement,**

mais la France, pourtant **leader sur les premières transformations des insects,** est en train de perdre son expertise.

90% des références scientifiques aujourd’hui sont publiées pas des laboratoires **non européens.** On ne peut pas abandonner la recherche dans ce domaine en Europe