Veille citoyenne d'information sur les OGM et les semences

Interférence ARN : 20 ans d'autorisations commerciales… sans évaluation

Par Eric MEUNIER

Publié le 25/02/2015, modifié le 05/12/2023

Bruxelles, juin 2014 : l'Autorité européenne de sécurité des aliments (AESA) organise, en grande pompe, un colloque international consacré à « *l'évaluation des risques des plantes génétiquement modifiées à l'aide d'ARNi* » [1]. Par ARNi, il faut entendre : technique d'interférence à ARN. Une nouvelle technique ? Pas vraiment puisque des OGM utilisant l'interférence à ARN sont déjà en cours de demandes d'autorisation dans l'Union européenne depuis 2010 et qu'en 1994 déjà, la tomate Flavr/Savr, modifiée pour exprimer un ARN spécifique, était commercialement autorisée. Vingt ans plus tard, il était temps que les experts européens creusent le sujet... On se souvient que la tomate Flavr/Savr, autorisée en 1994 aux Etats-Unis, avait été génétiquement modifiée par transgenèse pour avoir un mûrissement retardé. Elle fut rapidement retirée du marché et, suite à des irrégularités de ses scientifiques, l'Agence américaine pour l'Alimentation et les Médicaments (Food and Drug Administration – FDA) avait été condamnée [2]. Mais ce que l'on a compris en 2008, soit quinze après sa commercialisation, est que les mécanismes biologiques induits par l'insertion du transgène n'étaient, en 1994, pas correctement connus [3].

L'interférence à ARN : après 20 ans de recherche, on commence à comprendre

L'information génétique est supportée par l'acide désoxyribonucléique (ADN). Celui-ci contient les informations pour que la cellule synthétise une molécule intermédiaire : l'acide ribonucléique (ARN). Cet ARN sert ensuite de matrice pour la synthèse d'une protéine. Mais dans les années 90, suite à des travaux de transgenèse sur des pétunias, les chercheurs ont identifié que l'ARN avait aussi un rôle de régulateur [4], notamment en « éteignant » des gènes. La compréhension du mécanisme d'interférence à ARN est le fruit d'une vingtaine d'années de recherche [5]. Cela démarra donc dans les années 90 avec les travaux sur des pétunias. Ces pétunias avaient en effet été modifiés par transgenèse en insérant une copie du gène de pigmentation des fleurs, la chalcone synthase (gène CHS). Contrairement aux attentes des chercheurs, les pétunias ainsi modifiés n'avaient pas des fleurs d'une couleur pourpre plus prononcée, mais des couleurs allant du pourpre intense au blanc. Les fleurs blanches ont conduit les chercheurs à observer que l'insertion d'un transgène pouvait déclencher un mécanisme qui éteignait à la fois le transgène et le gène endogène responsable de la pigmentation des fleurs. Bien que ce mécanisme exact restait ignoré, il fut appelé « co-suppression » en référence à cette co-extinction. En 1993, l'équipe du Pr. Lindbo de l'Université d'état de l'Oregon, qui travaillait sur des plants de tabac génétiquement modifiés pour les rendre résistants à des infections virales, émit pour la première fois l'hypothèse que cette co-suppression avait lieu après la production d'ARN par la plante. Ainsi, Lindbo pensait que l'ARN synthétisé à partir du transgène introduit dans le génome d'un organisme vivant « s'hybridait » à certains ARN endogènes. Suite à cette hybridation, ces ARN issus du transgène

et ces ARN endogènes étaient dégradés, ce qui avait pour conséquence d'inhiber les voies métaboliques dans lesquelles les ARN endogènes étaient impliqués. En 1999, les chercheurs Hamilton et Baulcombe, du John Innes Center en Grande Bretagne, publiaient un article qui suggérait que l'ARN issu du transgène était découpé dans la cellule en petits ARN [6]. Autre observation surprenante : dans le cadre du phénomène de co-suppression observé, l'ARN issu du transgène présent dans la cellule est un ARN double brins, alors que contrairement à celle de l'ADN, la structure de l'ARN est normalement simple brin. Il peut être issu de la simple hybridation de deux ARN ou d'un ARN se repliant sur lui-même pour s'hybrider, formant alors une « structure en épingle à cheveux » (une tige avec les deux brins hybridés et une boucle pour les relier). L'hypothèse était alors que ces ARN double brins étaient ensuite découpés en petits ARN. Rapidement, d'autres chercheurs ont identifié que ces petites molécules d'ARN (d'une longueur d'environ 25 nucléotides, éléments de base d'un acide nucléique) étaient responsables de l'extinction spécifique de certains gènes. Ce mécanisme a alors été nommé « l'interférence à ARN » et a été observé non seulement chez les plantes mais aussi chez des nématodes et des insectes.

Les ARN, nouvel El Dorado biotechnologique ?

La tomate Flavr Savr n'est qu'un exemple. Plusieurs plantes transgéniques autorisées ou expérimentées aux États-Unis ou en France, depuis plus d'une décennie, avaient aussi été modifiées en utilisant la technique de l'extinction de gène via la production d'ARN interférent. Citons par exemple la vigne pour résister au virus du court-noué [7], testée en champ à Colmar (Alsace), ou des pruniers pour résister à la Sharka [8]. D'autres entreprises utilisent également l'interférence à ARN pour modifier des voies métaboliques, comme Syngenta, qui vient de signer un accord de partenariat avec l'entreprise NexGen pour utiliser cette technique pour conférer une résistance à des virus dans ses programmes « d'amélioration végétale » [9]. Malgré cette antériorité, les techniques utilisant l'interférence à ARN, sous quelque forme que ce soit, sont aujourd'hui présentées par l'AESA comme « *des techniques émergentes qui pourraient conduire au développement de la prochaine génération d'OGM* » [10]. Mais ces techniques sont confrontées en Europe aux obligations de la législation sur les OGM : évaluation des risques, étiquetage, surveillance environnementale... Alors comment ne pas gêner le développement commercial de ces techniques ? En faisant accepter une évaluation des risques moins contraignante que celle exigée aujourd'hui. Voyons comment.

Les ARN, molécules au service des entreprises

L'utilisation de l'interférence à ARN intervient dans les voies de régulation du développement d'un organisme vivant (miARN) ou dans la résistance à des parasites type virus, champignons, nématodes ou insectes (miARN et siARN) [11]. Ainsi, pour produire des plantes capables de « lutter » contre des virus, traditionnellement les chercheurs insèrent dans le génome d'une plante un transgène qui va coder pour un ARN viral. Seul, cet ARN transgénique ne donnera pas de virus. Mais lorsqu'un virus infectera la plante et introduira son ARN dans les cellules, l'ARN transgénique reconnaîtra l'ARN viral et s'hybridera à ce dernier. Le cycle du virus sera alors inhibé. Cette stratégie de lutte contre les virus a déjà été utilisée chez la betterave, le maïs, la papaye, le prunier, le riz, la vigne [12]... D'autres projets visent à tuer des insectes qui viennent se nourrir sur des cultures. Le principe est de faire exprimer par la plante transgénique des miRNA qui, une fois ingérés par l'insecte, vont inhiber une voie métabolique particulière de ce dernier et le tuer. Aux États-Unis, citons le maïs MON87411, modifié génétiquement pour deux objectifs : tout d'abord, produire un insecticide contre des coléoptères et plusieurs espèces de vers des racines de maïs (dont la chrysomèle *Diabrotica virgifera virgifera*) ; ensuite, tolérer les herbicides à base de glyphosate [13]. La résistance aux chrysomèles est obtenue en faisant exprimer par le maïs un ARN double brins présentant une homologie de séquence avec le gène Snf7 de la chrysomèle (la

protéine Snf7 est impliquée dans le transport et le tri de protéines qui vont constituer la membrane cellulaire). Lorsqu'elle est présente sur le maïs, la chrysomèle ingère l'ARN qui va éteindre l'expression du gène Snf7 et donc la tuer. Dans une récente interview, Robert McCarroll, un des vice-Présidents de Monsanto, a rendu publics plusieurs projets visant à conférer à des plantes une résistance à des parasites : la pomme de terre contre le doryphore, des tolérances aux herbicides à base de glyphosate, des résistances à un genre particulier de virus (les tospovirus) et des traitements pour les abeilles contre les mites Varroa et des virus [14]. L'interférence à ARN est également utilisée pour modifier des voies métaboliques, comme en témoignent trois sojas en instance d'autorisation dans l'Union européenne. En 2010, Monsanto a déposé une demande d'autorisation dans l'UE pour le soja transgénique MON87705, modifié pour tolérer des herbicides à base de glyphosate et avoir une composition en acide gras oléique plus élevée. Pour cette dernière modification, les chercheurs font produire à la plante un ARN qui inhibe l'expression d'une enzyme de la chaîne métabolique de transformation des acides oléiques en acides linoléiques : les acides oléiques ne sont donc plus transformés, leur quantité augmente, alors que celle des acides linoléiques diminue. Ce soja a reçu un avis favorable des experts européens mais négatifs des experts français, ces derniers considérant que « *l'étude de toxicité sub-chronique de 90 jours ne documente pas la sécurité de l'huile destinée à la consommation humaine* ». Il est maintenant en attente d'une décision finale de la Commission européenne depuis le 10 juin 2014 [15].
De son côté, l'entreprise Dupont Pioneer a fait de même avec son soja 305423, qui a d'ores et déjà reçu l'aval de l'AESA. Il est donc également en attente d'une décision finale d'autorisation ou d'interdiction de la part de la Commission européenne. A noter que, là encore, les experts français ont déclaré ne pas pouvoir « *statuer sur les risques liés à l'utilisation de cet OGM dans l'alimentation humaine et animale* », les analyses des risques présentées ne permettant pas « *de conclure à une équivalence en substance entre le soja 305423 et les variétés conventionnelles de soja […] sur les éventuels effets toxiques* » liés à sa consommation. Un autre soja de Pioneer est également en cours d'autorisation, le soja GTS40-3-2*305423 [16] [17]. Enfin, avec la technique aujourd'hui appelée BioDirectTM, Monsanto envisage d'utiliser l'interférence à ARN pour tuer les plantes et espère ainsi résoudre des problèmes de résistance aux herbicides. L'idée est d'asperger des plantes avec un cocktail d'herbicides à base de glyphosate et d'ARN double brins. Ces derniers vont inhiber la synthèse de protéines EPSPS des plantes cibles, jouant ainsi le rôle d'un herbicide chimique [18].

Des autorisations trop précoces ?

Comme nous l'avons déjà souligné, Calgene a obtenu, en 1994, une autorisation de mise en culture et commercialisation pour une tomate modifiée selon des mécanismes qui n'étaient pas correctement compris : cela pose question. Certes, les autorisations données aux États-Unis ne s'intéressent pas tant à la technique qu'aux organismes utilisés. Mais, sans connaître les mécanismes biologiques en jeu, comment savoir quels risques évaluer et comment les évaluer ? Plus fondamentalement, nous avons vu que l'efficacité de cette technique repose sur la spécificité des siARN ou miARN à s'hybrider avec un ARN particulier. Mais que se passerait-il si un siARN ou un miARN s'hybridait non seulement avec l'ARN cible mais également avec un ou d'autres ARN non cibles, entraînant la dégradation de ces derniers ? En 2012, un article scientifique montrait que des miARN de riz pouvaient se retrouver dans des tissus humains après consommation du riz et que l'expression de certains gènes humains pouvaient en être affectée [19]. Face à ces résultats, l'AESA déclarait en janvier 2012 qu'il s'agissait effectivement d'un problème « *d'importance générale concernant les impacts sanitaires de l'alimentation humaine et animale* », mais qu'elle limitera l'évaluation des risques associés à ces ARNmi « *aux plantes GM dont les modifications d'expression de gènes auront été obtenues par utilisation d'ARNmi* ». Une posture qui pose question car il est possible que l'insertion d'un transgène non voué à produire des ARNi puisse malgré tout aboutir à une induction de l'interférence à ARN. Mais l'AESA fait donc le choix de ne pas s'intéresser à ces possibles mi/siARN potentiellement codés par tout transgène [20] ! Si une

autre étude conclut ne pas observer ce phénomène de passage de petits ARN dans des tissus humains [21], il n'en reste pas moins que la question reste posée et que l'AESA n'a commencé à se pencher dessus qu'en juin 2014 alors même qu'elle rendait des avis favorables dès 2012 et 2013 pour le soja MON87705 et le soja 305423. Mais pour l'AESA, pas de problème car, interrogée par Inf'OGM, elle indique que « *les discussions lors du colloque n'ont pas fait émerger le besoin de revoir les risques liés à ces OGM [qui ont fait l'objet des avis en 2012 et 2013]. Une des conclusions fut en effet que les principes et concepts de l'évaluation des risques existante sont toujours pertinents* ».

Ces PGM à base d'ARNi seront-elles évaluées ?

Le colloque international de l'AESA de juin 2014 consacré à « *l'évaluation des risques des plantes génétiquement modifiées à l'aide d'ARNi* » visait à analyser, à partir des connaissances scientifiques actuelles bien évidemment, les éventuels effets de la technique d'interférence à ARN sur la plante elle-même ou, le cas échéant, sur le pathogène. En d'autres termes, et plus en ligne avec le travail de l'AESA, la question était de savoir si, pour la technique d'interférence à ARN, il fallait adapter les procédures d'évaluations des OGM actuels. Les conclusions tirées laissent la porte ouverte à un affaiblissement de l'évaluation. Hans Bergman de l'AESA déclarait ainsi en clôture du colloque : « *l'exigence de données sur les plantes GM par ARNi doit rester proportionnelle au niveau des risques potentiels sur la santé humaine et animale ainsi que sur l'environnement […]. Les analyses moléculaires et comparatives (caractérisation phénotypique et agronomique) devraient rester la base des évaluations des risques en tenant compte des effets intentionnels et non intentionnels de la technologie […]. L'analyse de la toxicité, sur des rongeurs, de molécules d'ARNi purifiées n'est pas considérée comme pertinente alors que celle de la plante entière est encore en débat* » [22]. La formulation « *encore en débat* » relève de l'euphémisme quand on lit le rapport lui-même où les différends entre experts sont très tranchés. Mais, sur la base de ces discussions et comme pour la cisgenèse (une technique équivalente à la transgenèse qui vise à introduire un gène de la même espèce) [23], l'AESA pourrait bel et bien envisager une évaluation des risques allégée par rapport aux plantes transgéniques avec, notamment, la potentielle fin des analyses de toxicité pour ces plantes GM à base d'ARNi ! Comment vont maintenant être utilisées les conclusions de ce colloque ? L'AESA a répondu à Inf'OGM que « *des discussions internes à l'AESA ont actuellement cours pour étudier comment incorporer au mieux les conclusions du colloque dans le travail de l'AESA sur les OGM* ».

Des brevets comme s'il en pleuvait

La technique d'interférence à ARN est l'objet de nombreux brevets. Un engouement qui s'explique notamment du fait des potentielles applications médicales de cette technique. Mais le nombre de brevets est tel que dès 2011, un article de Nature Biotechnology s'interrogeait pour savoir si « *le silence est toujours d'or ?* », en référence au fait que si les si/miARN rendent silencieux les ARN (endogènes ou exogènes) d'une plante, le nombre de brevets déposés dessus hypothèque la rentabilité de leur utilisation commerciale [24].
Sur ce dossier, un acteur sort du lot : l'entreprise Plant Bioscience Limited (PBL). Cette entreprise, propriété du laboratoire de Sainsbury, du centre John Innes et du Conseil de Recherches en Sciences biologiques et biotechnologiques, détient déjà pas moins de sept brevets qui portent tant sur le mécanisme d'interférence à ARN que sur des molécules d'ARNi. Pour cette entreprise, « *l'interférence à ARN devient rapidement très importante pour la recherche sur les cellules de mammifères, et notamment humaines […] La détection des petits ARN peut servir d'outil de diagnostic pour corréler l'efficacité de l'extinction d'un gène dans un système expérimental incluant l'utilisation d'ARNi. Mais de manière plus importante, les siARN peuvent être utilisés pour induire une extinction de gène en introduisant ces siARN dans des organismes pour cibler certains gènes* » [25].

Pour le domaine végétal, cette dernière phrase résume la portée que PBL espère donner à ses brevets : la propriété intellectuelle sur le principe même de l'interférence ARN. PBL explique d'ailleurs détenir un brevet sur la détection de l'extinction de gènes chez les plantes (brevet US 6,753,139), chez les mammifères (brevet US 7,704,688) et un brevet sur les méthodes d'induction de l'extinction de gènes dans un organisme, utilisant de petits ARN (brevet US 8,097,71 [26]. Ce dernier brevet a d'ailleurs vu ses prétentions étendues par deux autres brevets, hypothéquant de plus en plus les capacités de travail des chercheurs utilisant l'interférence ARN en thérapie médica [27]... Pour le végétal, et avec les incidences dénoncées sur le travail des paysans [28], ces brevets rejoignent la liste de ceux détenus ou en cours d'obtention sur les techniques de biotechnologie. Vingt années séparent donc la première plante transgénique commercialisée aux États-Unis et utilisant un mécanisme d'extinction de gènes et le colloque de l'AESA sur les risques associés à l'interférence à ARN. Vingt années au cours desquelles l'AESA a d'ores et déjà rendu quelques avis positifs sur ce type de plantes ; et vingt années pendant lesquelles les entreprises ont déjà déposé une kyrielle de brevets. Cette technique est symptomatique de la course en avant technologique, avec son lot d'incertitudes scientifiques et de brevets à tout prix.

---

[1] http://www.efsa.europa.eu/en/supporting/doc/705e.pdf
[2] Eric MEUNIER, « OGM aux Etats-Unis : quand l'administration ignore ses experts », *Inf'OGM*, mars 2004
[3] E.K. Krieger et *al.* (2008) « The Flavr Savr Tomato, an Early Example of RNAi Technology », *HortScience* 43(3):962-964
[4] Napoli C. et al. (1990) « Introduction of a chimeric chalcone synthase gene into petunia results in reversible co-suppression of homologous genes in trans », Plant Cell 2:279–289 et Van der Krol AR et al. (1990) « Flavonoid genes in petunia : addition of a limited number of gene copies may lead to a suppression of gene expression », *Plant Cell* 2:291–299
[5] Eamens A. et al. (2008) « RNA Silencing in Plants : Yesterday, Today, and Tomorrow », *Plant Physiology*, 147:456–468.
[6] Hamilton et Baulcombe (1999) « A species of small antisense RNA in posttranscriptional gene silencing in plants », *Science* 286:950–952
[7] Dossier FR/09/11/01 : avis scientifique du HCB, 15 mars 2010
[8] Eric MEUNIER, Robert Ali BRAC de la PERRIERE, « Les tribulations de pruniers transgéniques en Roumanie », *Inf'OGM*, mars 2006
[9] http://www.nexgenplants.com/nexgen-plants-and-syngenta-enter-research-and-development-collaboration/
[10] http://www.efsa.europa.eu/en/press/news/141204.htm ?
utm_source=newsletter&utm_medium=email&utm_campaign=20141203&utm_content=hl
[11] http://www.efsa.europa.eu/en/events/documents/140604-p03.pdf
[12] http://nsr.oxfordjournals.org/content/early/2014/05/14/ nsr.nwu006.full#ref-13
[13] http://www.federalregister.gov/articles/2014/01/13/2014-00389/ amendment-of-a-pesticide-experimental-use-permit-notice-of-receipt-of-application-comment-request. Numéro du brevet US 20130340111
[14] http://www.genomeweb.com/mirnarnai/monsanto-advances-topical-rnai-pesticide-against-colorado-potato-beetle (nécessité de s'inscrire)
[15] Inf'OGM, « Soja Mon87705 », *Inf'OGM*, 24 avril 2015
[16] Inf'OGM, « Soja 305423 », *Inf'OGM*, 24 avril 2015
[17] Inf'OGM, « Soja GTS40-3-2*305423 », *Inf'OGM*, 21 décembre 2017
[18] http://www.producer.com/2014/11/rna-technology-may-offer-resistance-help/
[19] Eric MEUNIER, « Les experts européens choisissent d'ignorer un problème qu'eux-mêmes jugent important », *Inf'OGM* , 15 mai 2012
[20] *Ibid.*
[21] JW. Snow et al. (2013) « Ineffective delivery of diet-derived microRNAs to recipient animal organisms », *RNA Biology* 10(7):1107-1116
[22] http://www.efsa.europa.eu/en/supporting/pub/705e.htm
[23] Eric MEUNIER, « UE – OGM / Cisgenèse : l'AESA propose un allégement de l'évaluation par rapport à la transgenèse », *Inf'OGM*, 9 mars 2012
[24] Lundin, P. (2011) « Is silence still golden ? Mapping the RNAi patent landscape », *Nature Biotechnology* 29:493–497
[25] http://www.pbltechnology.com/technologies/silencing/
99190-short-rnas/
[26] http://www.biocompare.com/Life-Science-News/134725-Dicerna-
And-PBL-Sign-Agreement-For-Baulcombe-Hamilton-RNAi-Patents
[27] http://rnaitherapeutics.blogspot.fr/2012/09/fundamental-
baulcombe-rnai-patents.html
[28] Inf'OGM, « Qu'est-ce que le brevetage du vivant ? », *Inf'OGM*, 19 septembre 2016

Adresse de cet article : https://infogm.org/article_journal/interference-arn-20-ans-dautorisations-commerciales-sans-evaluation/