
Les nouvelles techniques de modification du vivant s'appliquent aussi aux animaux d'élevage

Description

Des milliers d'animaux génétiquement modifiés par transgénèse (OGM transgéniques) sont utilisés depuis plusieurs dizaines d'années dans les laboratoires comme outil de connaissance scientifique. Commercialement, en revanche, les animaux transgéniques ont un succès tout à fait relatif, du fait notamment de dysfonctionnements techniques, mais aussi de non acceptation du consommateur. Mais les nouvelles techniques de transformation du vivant pourraient changer la donne, puisqu'elles créent des animaux génétiquement modifiés... sans transgènes. Non traçables, ces techniques intéressent les industriels.

Seul le moustique transgénique a reçu une autorisation commerciale. Les autres demandes de commercialisation d'animaux transgéniques sont soit abandonnées, comme celle pour les cochons EnviroPig [1], soit font la queue dans les couloirs des administrations, à l'instar de celle du saumon transgénique censé grandir quatre fois plus vite qu'un saumon sauvage [2].

Au niveau de la production de médicament, l'Agence européenne des médicaments a autorisé la vente de deux molécules thérapeutiques produites par des chèvres [3] et des lapins transgéniques. D'autres usages sont prévus depuis des années mais n'aboutissent pas [4]... Car des dysfonctionnements surviennent parfois : ainsi la production d'une protéine humaine, l'érythropoïétine chez un lapin génétiquement modifié avait des conséquences négatives sur sa santé [5].

Au-delà des risques environnementaux et de l'absence d'évaluation sanitaire sérieuse, la transgénèse pour les animaux d'élevage semble aussi peu prometteuse... Louis-Marie Houdebine, chercheur à l'Inra, reconnaît que la transgénèse implique le sacrifice d'animaux, étant donné que « *chez les mammifères, pas plus de 10 à 15% des embryons survivent après la micro-injection* » [6]. La transgénèse animale est donc « *très coûteuse et d'un maniement relativement délicat* ».

Les recherches actuelles de modification des animaux passent par l'utilisation de nouveaux outils « d'édition des génomes » [7] : des ciseaux à ADN, comme les Talen, ou Crispr/Cas9 [8]. Ces outils sont d'ores et déjà utilisés chez les végétaux. En France, le laboratoire Résistances des Plantes aux Bioagresseurs (IRD / Cirad / Université de Montpellier 2) a reçu 100 000 dollars de la Fondation Gates [9] pour développer un riz « *résistant aux maladies bactériennes émergentes en Afrique de l'Ouest* », via l'utilisation de Talen. Les chercheurs de l'Institut de Recherche pour le développement (IRD) précisent sur leur site que « *les Talen peuvent être rapidement produits, à faible coût, et peuvent être agencés de manière à cibler toute séquence d'ADN souhaitée* » [10].

Ainsi, le nombre d'articles scientifiques qui évoquent l'utilisation de ces ciseaux à ADN chez des animaux d'élevage se multiplie. En voici quelques exemples...

Talen : des ciseaux à ADN pas très efficaces mais très spécifiques

L'équipe du professeur Whitelaw a modifié des moutons et des bovins *via* des protéines Talen [11]. Leur but était de couper la séquence génétique qui code pour la production de la protéine myostatine (MSTN) afin que cette protéine ne s'exprime plus. La myostatine est une protéine qui freine le développement musculaire, et les animaux déficients, en l'absence de ce frein, ont donc un système musculaire hypertrophié.

Économiquement parlant, si cette délétion génétique arrive à produire des animaux viables, elle permettrait d'augmenter la masse musculaire de l'animal. Des mutations du gène MSTN avaient déjà été observées dans des races traditionnelles et avaient déjà été sélectionnées par des méthodes, elles aussi, traditionnelles. Mais l'utilisation de Talen semble avoir plusieurs avantages. Tout d'abord, les chercheurs insistent, dans leur article, sur le fait que leur technique permet de s'affranchir de la nécessité complexe d'un clonage à partir de cellules somatiques (comme la brebis Dolly) en modifiant ici directement un ovocyte fécondé *in vitro*. On part donc d'un vrai embryon. Or, le clonage à partir de cellules somatiques présenterait une faiblesse importante : les chromosomes sont soupçonnés de ne pas récupérer la totalité de la longueur des télomères [12], marqueur de la « jeunesse » d'une cellule.

Ensuite, Eric Marois, chercheur au CNRS, nous précise que cette technologie permet aussi de s'affranchir du processus d'introgession – croiser la race porteuse de la mutation avec la race dans laquelle on souhaite introduire cette mutation – et de rétrocroisements, processus qui prennent plusieurs années. Enfin, il précise que « *la transgénèse classique aurait également permis d'introduire cette mutation dans le génome de mammifères, mais avec les Talen, l'animal qui en résulte n'est pas transgénique (il ne porte aucun transgène), même s'il est bien génétiquement modifié. On ne pourra cependant jamais distinguer cette mutation induite artificiellement d'une mutation naturelle qui aurait été sélectionnée de façon classique* ». Whitelaw nous avait aussi signalé l'absence de gène étranger introduit dans les génomes et la difficulté, de ce fait, de tracer la modification génétique. Dans la réalité, les chercheurs ont étudié plusieurs cellules du veau ainsi obtenu et ont noté que ce veau était « mosaïque » : certains de ses tissus portent l'une des mutations, d'autres tissus l'allèle sauvage, d'autres une autre mutation... Concrètement, cela signifie qu'il peut avoir les muscles des jambes arrières hypertrophiés alors que d'autres muscles resteront normaux. Pourquoi ? Les chercheurs injectent bel et bien les Talen au stade 1 de la cellule, mais, les Talen doivent d'abord être transcrits en protéine à partir de l'ARN injecté, ce qui peut prendre du temps et donc l'œuf, lui, commence à se diviser sans attendre... D'où des mutations différentes dans les diverses cellules. D'ailleurs, si la mutation n'est pas présente dans les gonades, la descendance n'héritera pas de la modification et l'expérience devra donc être refaite. Ainsi, après avoir obtenu un veau F1, les chercheurs doivent le croiser avec des vaches classiques et tester chaque rejeton par PCR pour savoir s'il a hérité de la mutation... Eric Marois nous précise que les PCR sont désormais « *très simples et rapides* ». Le rejeton qui présentera la mutation souhaitée sera donc l'heureux fondateur d'une nouvelle lignée.

Il n'est pas du tout exclu que la modification par Talen implique la présence de mutations « collatérales » non prévues, dues à l'activité des Talen ailleurs dans le génome, mutations qui pourraient donc fragiliser la lignée descendant de cet animal (en la prédisposant à des maladies par exemple). Ceci peut être le cas si la séquence-cible ressemble à d'autres séquences présentes ailleurs dans le génome. Ceci dit, d'après Eric Marois, « *cette non-spécificité est très rarement un problème avec les Talen car les Talen vont par deux (ce sont des paires de Talen), et chacun s'accroche à une séquence spécifique, différente mais adjacente l'une de l'autre dans le gène choisi avant de s'associer pour couper. La spécificité d'un Talen est donc renforcée par la spécificité de l'autre*

». Pour lui, au final, « *les Talen et même Crispr-Cas9 semblent avoir une spécificité fantastique qui fait que de telles mutations collatérales sont très rares. On peut d'ailleurs concevoir les outils génétiques de façon à minimiser cette activité collatérale (cibler une séquence qui ne ressemble à aucune autre dans le génome, et utiliser des versions des Talen ou de Crispr-Cas9 qui décuplent la spécificité)* ». Malgré tout, Eric Marois préconise pour des raisons éthiques et de rigueur scientifique, et donc pour exclure ce risque de mutation collatérale, « *le séquençage complet du génome de l'animal obtenu et de comparer son génome avec celui des parents non génétiquement modifiés, d'autant que les progrès dans le domaine du séquençage des génomes font que ce test de validation peut être assez rapide aujourd'hui* ». Il estime qu'ainsi toute différence non retrouvée dans les parents pourrait être un dommage collatéral dû aux Talen. « *S'il n'en existe aucune, on pourra donc affirmer que l'animal est équivalent à son homologue traditionnel [hormis la modification faite par le scientifique]. Si par malchance on s'apercevait au séquençage que l'animal choisi porte aussi une mutation collatérale, il serait de toute façon facile de la contre-sélectionner par PCR dans la descendance toute en gardant la mutation désirée* ». Est-ce que le législateur rendra obligatoire ce séquençage *a posteriori* des animaux obtenus ? Est-ce que les entreprises auront cette rigueur et cette éthique ?

L'article précise qu'un seul agneau, parmi les douze mis au monde par la brebis aux ovocytes modifiés, était porteur de la mutation. Pour Eric Marois, ce faible taux de réussite est une chance : en effet, si les Talen étaient plus efficaces, cela risquerait d'augmenter aussi le taux de mutations collatérales : « *Il vaut mieux des Talen peu actifs qui seront très spécifiques, même s'il faudra chercher la mutation parmi beaucoup d'animaux avant de la trouver. L'important est de toute façon de réussir à trouver ne serait-ce qu'un seul animal portant la mutation souhaitée, qui pourra fonder une lignée* ».

Crispr/Cas9 : les meilleurs ciseaux à ADN

D'autres modifications génétiques sur animaux ont été tentées... Des chercheurs de l'Institut de recherche marine de Norvège affirment avoir « *pour la première fois* » [13] utilisé la technologie Crispr/Cas9 sur des espèces marines propres aux eaux froides. En effet, ils affirment avoir réussi à éteindre deux gènes impliqués dans la pigmentation tyrosinase (tyr) et solute carrier family 45, member 2 (slc45a2)), chez le saumon (*Salmo salar L.*). Les saumons ainsi obtenus sont plus ou moins dépigmentés... ce qui indique une variation dans les mutations. Les chercheurs proposent d'utiliser la délétion des séquences génétiques responsables de la pigmentation comme marqueur, permettant de discriminer facilement entre les saumons réellement modifiés et les autres... La technique du knock out, utilisée depuis très longtemps, fait la même chose.

Les chercheurs concluent que Crispr/Cas9 est un formidable outil pour mener « *des études fonctionnelles* », c'est-à-dire déterminer quelle séquence génétique induit quel phénotype. Ils notent cependant que l'utilisation de Crispr/Cas9 chez le saumon « *semble être un peu moins efficace que ce qui a déjà rapporté pour d'autres espèces de poissons, probablement en raison des caractéristiques de ses œufs* ». Les auteurs soulignent que les technologies Talen ou nucléotides à doigt de zinc induisent des fréquences de mutation moindres que Crispr/Cas9 à la génération F0 et donc sont moins efficaces...

Une équipe chinoise a, quant à elle, annoncé avoir utilisé Crispr/Cas9 chez des cochons pour « *éteindre* » la séquence génétique codant la production de la protéine NPC1L1 [14] qui sert au transport du cholestérol, entraînant un taux de LDL cholestérol plus bas et donc un risque moindre de développer une maladie cardio-vasculaire... Les auteurs de l'article parlent d'une efficacité à 100% et,

précisent que cette technologie permet de dépasser l'inefficacité des techniques actuelles de transformations des lignées somatiques.

Étant donné que le cochon est un mammifère proche physiologiquement des humains, il est utilisé comme modèle pour étudier les maladies humaines et certains espèrent toujours l'utiliser pour des transplantations d'organes (xénotransplantations). L'équipe chinoise considère donc son travail comme une avancée notoire en médecine humaine, notamment dans la lutte contre les maladies cardio-vasculaires. Cependant, à l'instar des maïs qui devaient produire des vaccins, l'argument sanitaire ne serait-il pas, à nouveau, utilisé pour mieux vendre des animaux ayant au final un intérêt principalement pour l'industrie agro-alimentaire ?

Comme nous le précise Whitelaw, « *la transgénèse et l'édition de génome sont également stables génétiquement. L'édition de génome est plus précise, n'implique aucun transgène et est facile à réaliser. Et elle n'implique pas de clonage* ». Quant à savoir si ces animaux sont prêts à être commercialisés, il considère que ces innovations verront le jour dans cinq à dix ans peut-être aux États-Unis, mais « *plus vraisemblablement dans les BRICS [15]* ».

Eric Marois (CNRS / Inserm) renchérit : « *A priori, je pense que Talen et Crispr-Cas9 permettront d'obtenir très rapidement des mutations inactivant des gènes ciblés. Pour des manipulations génétiques plus complexes (remplacement d'un allèle par un autre, donnant par exemple une résistance à une maladie), ces outils permettront probablement d'accélérer les techniques déjà existantes développées chez la souris* ».

De nombreux articles montrent que des trois récents ciseaux à ADN (Talen, méganucléase à doigt de zinc et Crispr/Cas9), c'est le dernier qui sera le plus efficace pour couper le génome d'un animal en vue de le modifier. Ce que nous confirme Eric Marois : « *Notez que les Talen commencent déjà à être passées de mode, le système Crispr-Cas9 étant beaucoup plus efficace et plus simple à utiliser ! Cela dit, il y aura peut-être un retour sur les Talen pour certaines applications notamment agricoles, pour lesquelles on souhaitera minimiser les mutations collatérales car leur spécificité pourrait être supérieure* ». Mais il est aussi possible que « *l'optimisation du système Crispr/Cas9 en fera un outil aussi précis que les Talen* ».

date créée

19 Juin 2015