

De la modification aléatoire vers la modification ciblée du génome végétal

Michel Delseny

**Directeur de recherche émérite au CNRS ,
Laboratoire Génome et Développement des Plantes,
UMR 5096 CNRS-Université de Perpignan.**

delseny@univ-perp.fr

Pour toute utilisation du contenu de cette présentation, veuillez citer l'auteur, son organisme d'appartenance, le volet 4 des ateliers « Modifications ciblées des génomes et enjeux éthiques » de la Plateforme « Génétique et Société » de Toulouse, le titre du document ainsi que la date. Merci



Atelier GenoToul 10.11. 2016



UPVD
Université de Perpignan Via Domitia



Les enjeux de l'agriculture

- **Nourrir des populations croissantes, en quantité et qualité, avec moins de terres cultivables.**
- **Produire les molécules et matériaux nécessaires à l'activité humaine de façon économique et durable.**
- **Assurer un revenu décent aux agriculteurs.**
- **S'adapter à un environnement changeant: climat, pathogènes, pollutions...**
- **Préserver la qualité de l'environnement.**
- **Réduire et absorber l'excès de CO2.**

- **Des questions scientifiques, économiques, sociétales et politiques.**
- **Un besoin urgent de nouvelles technologies pour continuer à maintenir la production végétale à la hauteur des besoins**

Exploitation de la diversité génétique et amélioration des plantes

- L'amélioration des plantes repose sur l'exploitation de la diversité génétique, la recombinaison des caractères par croisements et la sélection
- Cette recombinaison est aléatoire et peut entraîner avec elle des caractères liés indésirables
- La diversité naturelle peut être insuffisante, pour y pallier:
 - Croisements interspécifiques
 - Mutagénèse
 - Variation somaclonale induite par la culture de tissus
 - **Aucune de ces méthodes n'est précise ni rapide**
- Introduction de gènes étrangers par transgénèse

Une bactérie du sol introduit un fragment de son ADN dans le génome des plantes

- La bactérie *Agrobacterium tumefaciens* provoque la galle du collet (1907).
- Jeff Schell (1935-2003) et Marc Van Montagu découvrent que le plasmide Ti (minichromosome) d'*Agrobacterium* est responsable des symptômes (1974).
- Mary-Dell Chilton découvre qu'un fragment du plasmide Ti est inséré dans le chromosome des plantes (1975).
- Ce système naturel est modifié et utilisé pour introduire un (des) gène(s) nouveau(x) dans les plantes (PGM, Plante Génétiquement Modifiée).
 - Le premier tabac transgénique, résistant à la kanamycine, est décrit et publié en 1983.
 - La première PGM (tomate longue conservation) est commercialisée en 1994.



Les étapes de la réalisation d'une PGM

- Construction d'un vecteur portant le gène d'intérêt et un marqueur de sélection
- Introduction de la construction dans *Agrobacterium*
- Co-culture d'un explant végétal et d' *Agrobacterium*
- **Insertion au hasard du T-DNA dans le génome de la plante**
- Régénération de plantes entières et sélection des transformants
- Evaluation des transformants



Qualités attendues de la plante PGM

- **Propriétés nouvelles conformes aux espérances.**
- **Innocuité sanitaire et environnementale.**
- **Confirmation des qualités après essais au champ.**
- **Succès aux tests d'évaluation pour l'inscription au catalogue:**
 - **VATE: Valeur Agronomique, Technologique et Environnementale**
 - **DHS: Distinction, Homogénéité, Stabilité.**

Les inconvénients potentiels des PGM

- **Présence de gènes marqueurs indésirables (résistance à antibiotique ou herbicide)**
- **Insertion du gène étranger au hasard avec des risques mutagènes indésirables**
- **Nécessité d'une étape de tri et de sélection**
- **Incertitude sur le degré d'innocuité sanitaire ou environnementale**
- **Risque de dissémination indésirable dans l'environnement**

- **Nombre initialement limité de gènes à transférer**
- **Intérêt initialement limité pour le consommateur**

La situation des PGM dans le monde

- **180 millions d'hectares cultivés en PGM en 2015 (> 10X la surface cultivable de la France). 2 milliards cumulés en 20 ans.**
- **18 millions d'agriculteurs ont semé des PGM dans 28 pays (20 en développement et 8 développés).**
- **Pays producteurs: USA (73 M ha), Brésil (42 Mha), Argentine (24 Mha), Canada (11,6 Mha), Inde (11,6 Mha), Chine (4 Mha), Afrique du sud (2,7 Mha).**
- **Une trentaine d'espèces concernées (des dizaines de variétés), environ 370 évènements indépendants, principalement maïs, soja, coton , betterave, colza , papayer, pomme de terre, aubergine, riz, eucalyptus, rose, oeillet...**
- **Dans tous les pays concernés, des essais au champ sont réalisés afin de s'assurer de l'innocuité et de la qualité des plantes et produits qui seront commercialisées.**
- **L'Europe est à la traine avec ~117 000 ha, principalement de Maïs Bt en Espagne.**

Quelques exemples de PGM (commercialisées ou expérimentées)

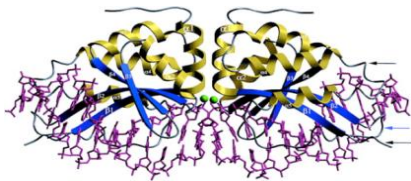
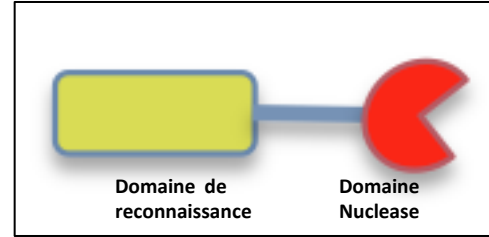
- Plantes résistantes à un herbicide (Maïs , soja, colza...)
- Plantes résistantes aux insectes (toxine Bt: maïs, coton, pomme de terre, aubergine...)
- Plantes résistantes aux virus (concombre et CMV, papayer et PRSV, pêcher et virus de la sharka, vigne et court noué...)
- Plantes tolérantes à la sécheresse (Maïs), à la chaleur, au froid ou au sel
- **Nombreuses applications au stade expérimental:**
 - Plantes utilisant l'azote ou les phosphates plus efficacement
 - Plantes enrichies en nutriments (riz doré et Vit A, tomate et vit A, manioc et vit B6, riz enrichi en Fe et Zn, soja enrichi en acides gras spécifiques...)
 - Plantes produisant des médicaments (anticorps, réactifs pharmaceutiques, interleukine, facteurs de coagulation, lipase contre mucoviscidose, vaccin fièvre aphteuse, tabacs anti-Ebola...)
 - Plantes à valeur biotechnologique (teneur en huile, en lignine, biofuels...)

L'évolution des technologies

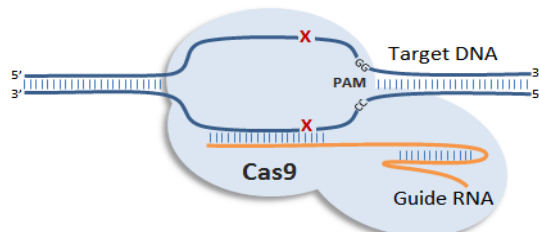
- Des progrès dans l'évaluation grâce au séquençage d'ADN
- Des progrès dans l'élimination des marqueurs de sélection
- Des progrès dans la connaissance des gènes et de leurs fonctions
- Des progrès dans la connaissance de la diversité génétique au sein d'une espèce
- Des progrès dans les connaissances sur la recombinaison génétique
- Des progrès dans les possibilités de ciblage précis d'une région chromosomique
- **Créer une cassure double brin au site désiré et utiliser les capacités de réparation ou de recombinaison homologue de la plante pour modifier localement son ADN**

Les nouveaux outils du ciblage génomique

4 types de nucléase
site dirigée
ou « SDN » (Site
Directed Nuclease)



Meganucleases

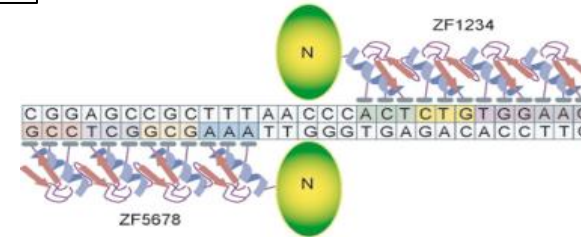


CRISPR/Cas9

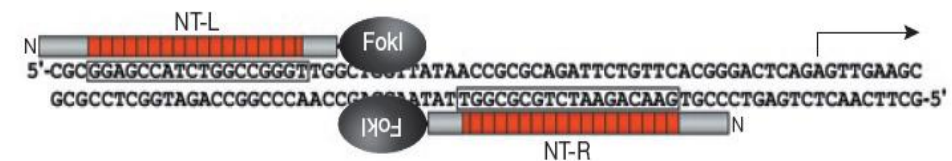
(Clustered Regulatory and Interspersed
Short Palindrome Repeat)

naturelles

artificielles



Nucleases à doigt de Zinc (ZFNs)



TALENs

(Transcription Activator Like Effector
Nucleases)

Une nouvelle révolution en génie génétique : CRISPR-Cas9

- Découverte par Jennifer Doudna et Emmanuelle Charpentier, en 2012, d'un nouveau mécanisme d'immunité des bactéries vis-à-vis des virus chez *Streptococcus pyogenes*: CRISPR-Cas9.
- CRISPR : Clustered Regularly Interspersed Palindromic Repeats, Cas9 endonucléase associée à CRISPR.
- Le système CRISPR-Cas9 permet de réparer ou de remplacer précisément un gène dans une cellule.
- **Il n'y a pas besoin de vecteur, il n'y a pas d'ADN étranger, la modification est ciblée**
- Déjà des applications en médecine et en amélioration des plantes (pommes de terre ne produisant plus d'acrylamide à la friture, blé sans gluten, blé résistant à l'oïdium, orge résistant au mildiou...).
- L'avenir de cette technologie en Europe dépendra des décisions réglementaires (considérées comme PGM ou non).



Conclusions

- **Des méthodologies de plus en plus précises, utilisables pour un nombre de plantes toujours plus grand.**
- **Un éventail de gènes à exploiter tout à fait considérable (> 100 génomes végétaux séquencés, des milliers de gènes disponibles).**
- **Des plantes plus intéressantes pour les consommateurs.**
- **Une nouvelle technologie, le ciblage de gène, qui va faciliter le génie génétique et rendre la modification génétique plus précise.**
- **Des dispositifs d'évaluation sans précédents.**

- **Un recul de 30 ans sans incident avec les PGM**
- **Des limites des modifications ciblées à évaluer**
- **Quel impacts prévisibles pour l'agriculture intensive ou familiale ?**
- **Faut il réglementer sur les méthodes ou sur les caractères finaux ?**

