

The background of the slide features a blue-toned image of multiple DNA double helix structures. A hand, appearing from the right side, holds a pair of surgical scissors and is in the process of cutting one of the DNA strands. A bright, glowing light emanates from the point where the scissors are cutting the DNA, creating a focal point of light and shadow. The overall image conveys a sense of precision and scientific intervention in genetics.

L'édition génomique des bovins, opportunité ou menace ?

Laurent Schibler & Aurélie Bonnet

Un certain enthousiasme...



L'édition génomique

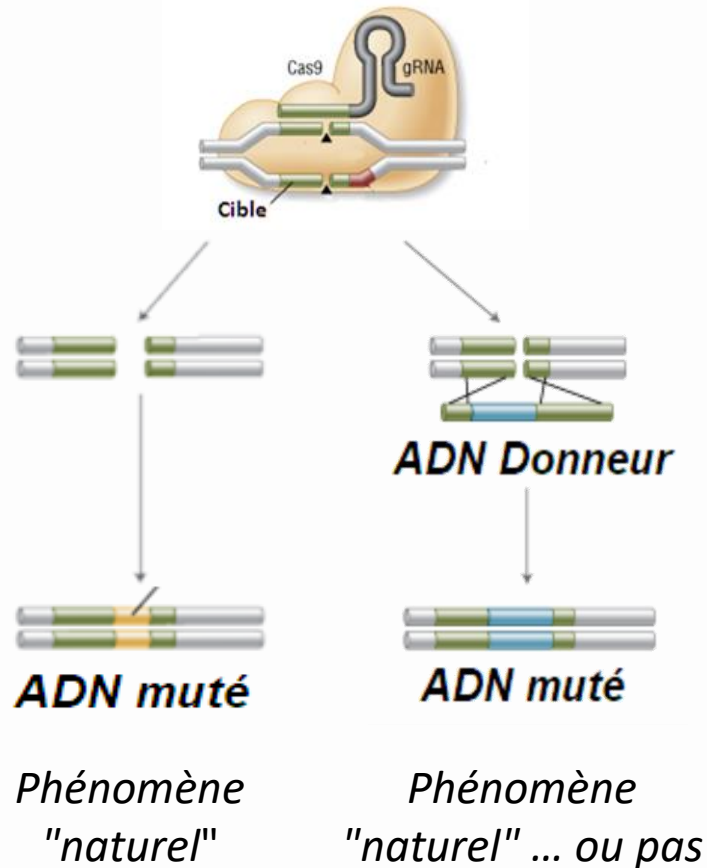
- Procédé permettant de corriger (« editing ») la séquence d'ADN
- Utilise des endonucléases de restriction qui coupent l'ADN
 - Zinc finger nucleases (ZFN)
 - Meganuclease
 - Transcription activator-like effector nuclease (TALEN)
 - CRISPR/CAS9
- Relève des technologies de mutagénèse
 - Hors champ de la directive OGM
- Certaines approches relèvent de la transgénèse
 - En particulier avec le système CRISPR/CAS9

CRISPR/Cas9... quèsaco ?

- Un outil de génie génétique à plusieurs facettes



Réparation aléatoire
de la cassure



Réparation dirigée
par homologie

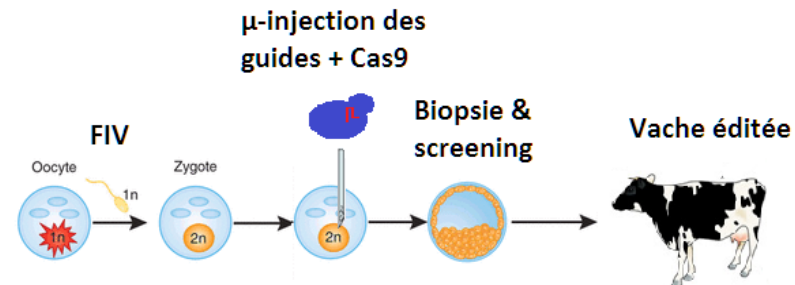


CRISPR/Cas9... quèsaco ?

- Deux stratégies possibles pour éditer les ruminants

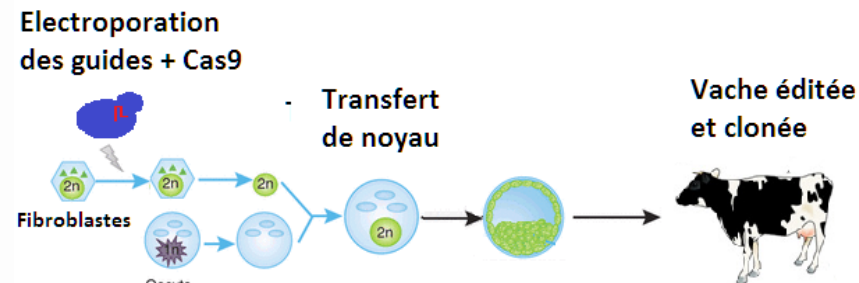
Edition du zygote par micro-injection

Faible efficacité liée à la μ -injection, la biopsie et la congélation



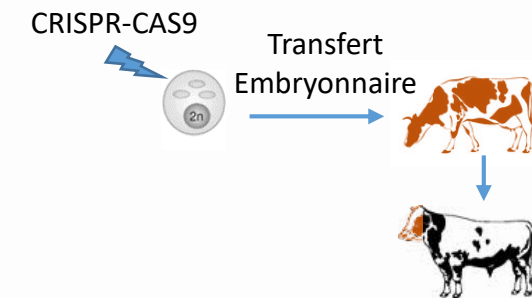
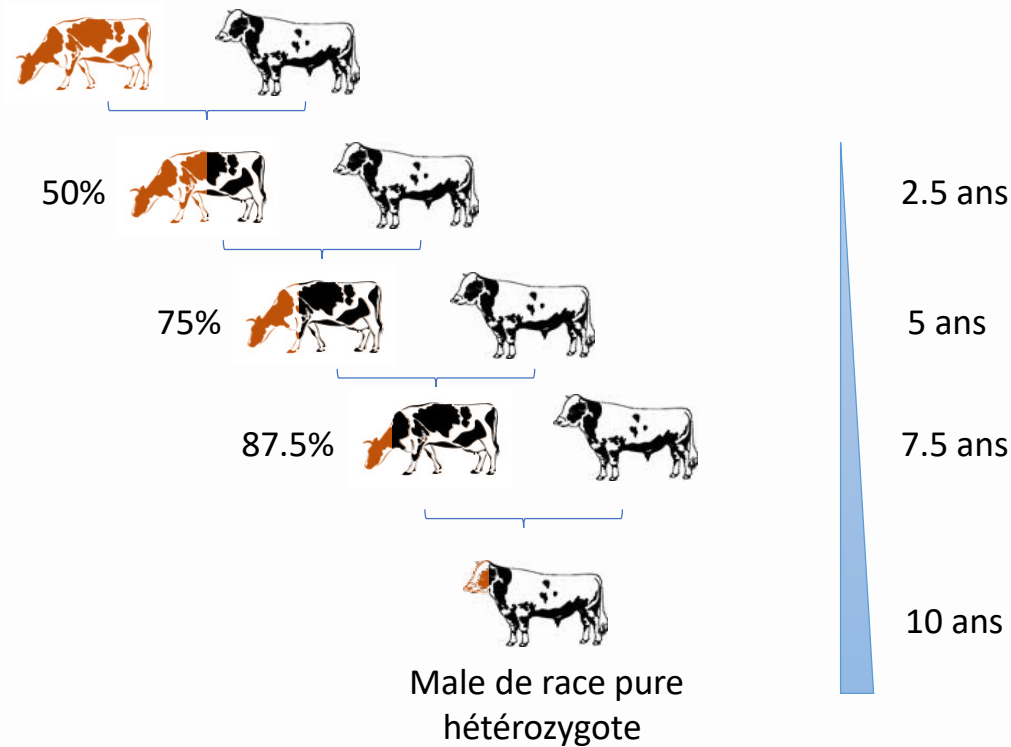
Edition des cellules en culture, puis transfert nucléaire

Efficace, mais produit des clones



Des applications multiples

- L'introgression de mutations d'intérêt
 - Evite les générations de rétrocroisement



⇒ Gain de 7 à 10 ans

Des applications multiples

- L'introgression de mutations d'intérêt
 - Evite les générations de rétrocroisement
 - Reproduit un phénomène naturel
 - Effet des mutations est connu
 - Peut limiter l'impact négatif sur la diversité et le progrès génétique
 - Edition de plusieurs taureaux élités
 - Pas de baisse du niveau génétique

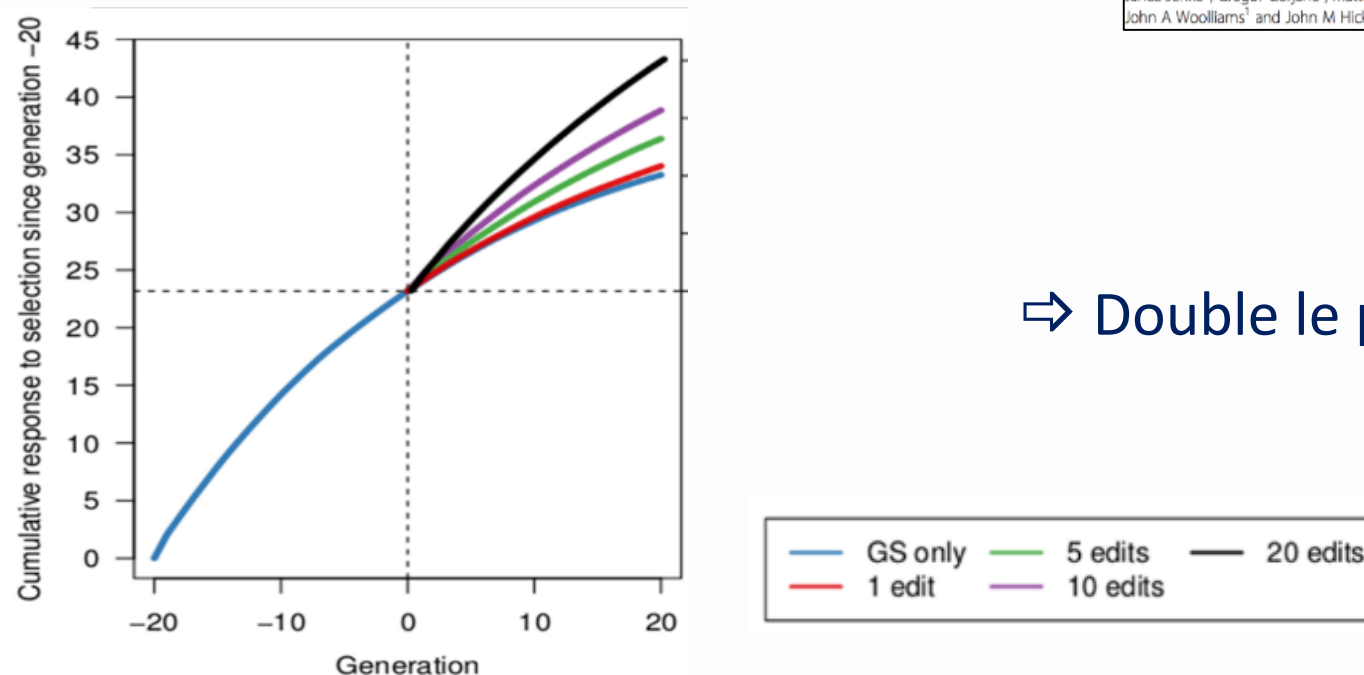
Production of hornless dairy cattle
from genome-edited cell lines



NATURE BIOTECHNOLOGY VOLUME 34 NUMBER 5 MAY 2016

Des applications multiples

- L'accélération du progrès génétique
 - Edition de plusieurs QTN
 - Mise à l'état homozygote directement



⇒ Double le progrès génétique



Des applications multiples

- La correction d'anomalies génétiques
 - Exemple: mutation ponctuelle récessive responsable de l'IARS
 - Isoleucyl-tRNA synthetase syndrome en race Wagyu
 - Défaut de production des protéines
 - Mortalité foétale ou retard de croissance intra utérin, fragilité et mortalité à la naissance

SCIENTIFIC REPORTS

Correction of a Disease Mutation using CRISPR/Cas9-assisted Genome Editing in Japanese Black Cattle

Mitsumi Ikeda¹, Shuichi Matsuyama², Satoshi Akagi³, Katsuhiro Ohkoshi¹, Sho Nakamura²,
Shiori Minabe², Koji Kimura⁴ & Misa Hosoe¹

Des applications multiples

- L'amélioration de la qualité des produits
 - Supprimer les allergènes du lait
 - Lait hypoallergénique dépourvu de β -lactoglobuline

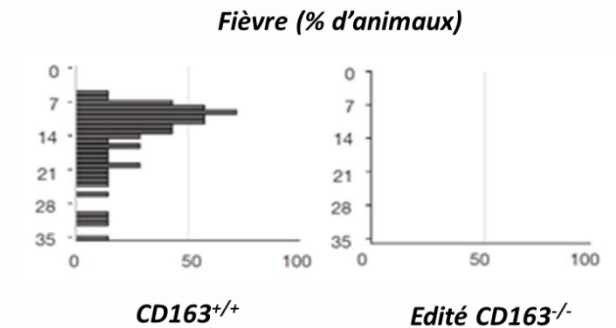
SCIENTIFIC REPORTS

Cattle with a precise, zygote-mediated deletion safely eliminate the major milk allergen beta-lactoglobulin

Jingwei Wei¹, Stefan Wagner^{1,2}, Paul Maclean¹, Brigid Brophy¹, Sally Cole¹, Grant Smolenski^{1,2}, Dan F. Carlson⁴, Scott C. Fahrenkrug⁴, David N. Wells¹ & Götz Laible¹ 

Des applications multiples

- La création d'allèle de résistance à des maladies
 - Exemple chez le porc :
 - Syndrome Dysgénique et Respiratoire Porcin (SDRP ou PRRS en anglais)
 - Introduction de mutations dans le récepteur au virus (CD163)



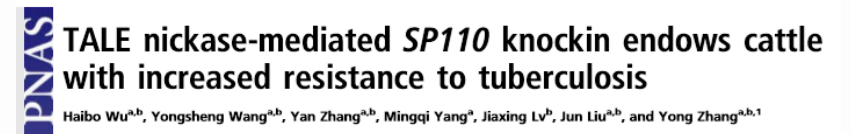
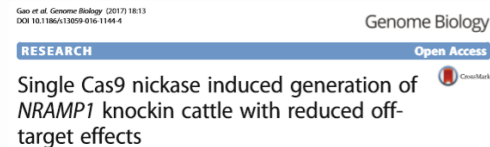
- Mais CD163 protège les tissus contre les dommages oxydatifs
- CD163 joue aussi un rôle dans l'inflammation locale en réponse à des bactéries.
- Risque d'effets négatifs collatéraux non encore identifiés ?

Des applications multiples

- La création d'allèle de résistance à des maladies
 - Exemple chez le bovin
 - Résistance au prion



- Moindre sensibilité à la tuberculose
 - Mutation naturelles de *NRAMP1* ou introduction du gène *SP110* murin



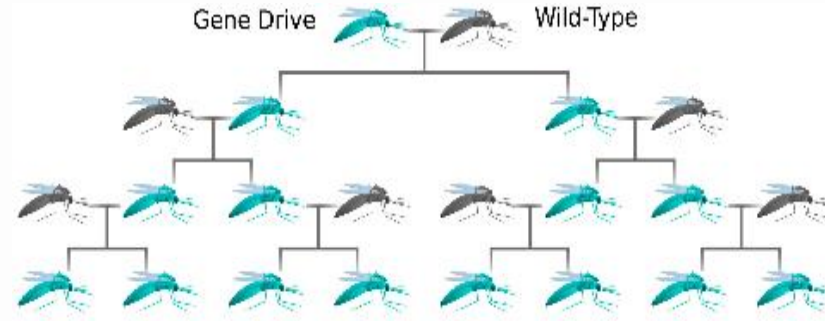
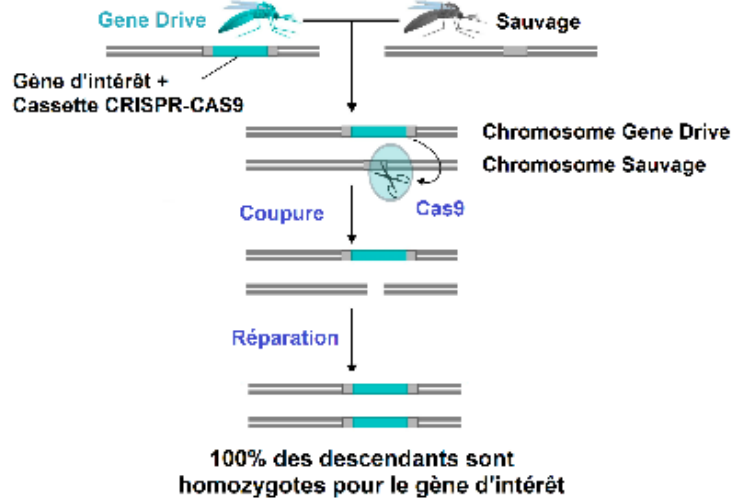
- Résistance aux mammites
 - Introduction du gène du lysozyme humain dans le locus de la β -caséine

Generation of mastitis resistance in cows by targeting human lysozyme gene to β -casein locus using zinc-finger nucleases

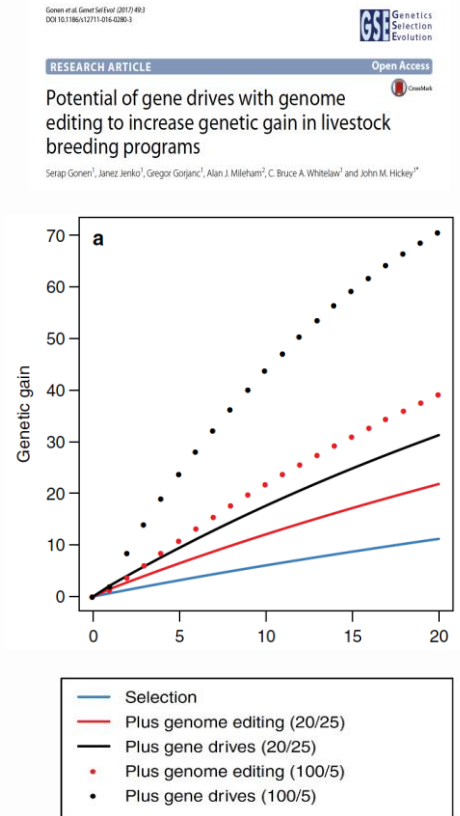
Xu Liu^{1,2}, Yongsheng Wang^{1,2}, Yuchen Tian^{1,2}, Yuan Yu^{1,2}, Mingqing Gao^{1,2}, Guangdong Hu^{1,2}, Feng Su^{1,2}, Shaohui Pan^{1,2}, Yan Luo^{1,2}, Zekun Guo^{1,2}, Fusheng Quan^{1,2} and Yong Zhang^{1,2}

Des applications multiples

- Le forçage génétique (Gene Drive)



La fréquence du gène modifié augmente rapidement dans la population

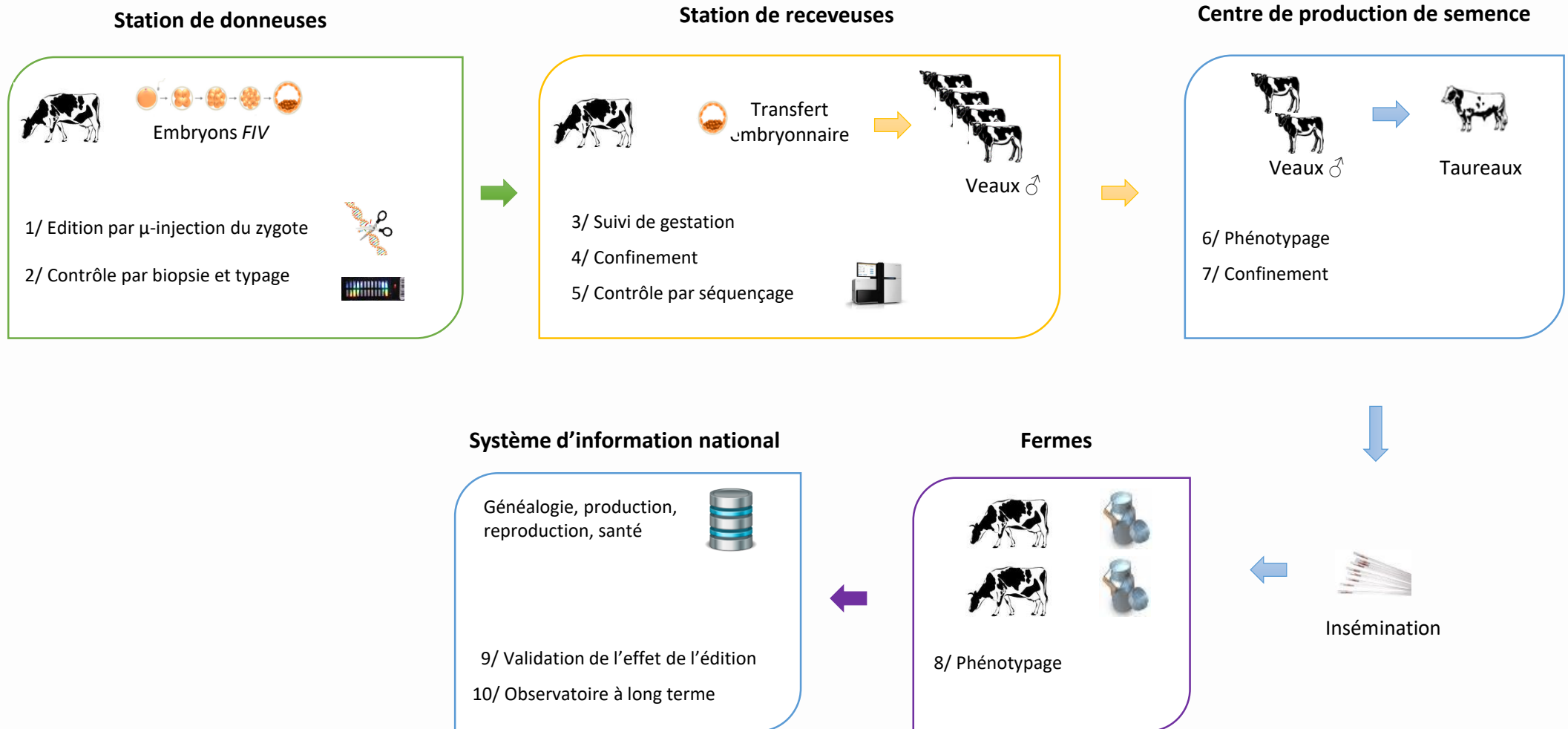


⇒ progrès génétique x5

Une opportunité pour l'élevage

- Un formidable outil de recherche
 - Explorer les relations génotype-phénotype
 - Valider plus rapidement les mutations candidates
- Des animaux plus efficaces et en meilleure santé
- Des produits de meilleure qualité
- Une réduction de l'empreinte environnementale
- Préservation de la diversité des races
 - Compétitivité économique des races locales
 - Correction d'anomalies génétiques dans les races à faible effectifs

La filière génétique, un contexte favorable



En résumé, 3 types d'applications

- Introduction de mutations existantes dans d'autres races
 - Reproduit un phénomène naturel, effet des mutations est connu
 - Gain de 7 à 10 ans et moins d'impact consanguinité
 - Progrès génétique x2
- Introduction de néo-mutations
 - Reproduit un phénomène naturel, effet des mutations inconnu
 - Evaluation au cas pas cas
- Introduction de nouveaux gènes
 - Similaire à la transgénèse, franchit la barrière d'espèce
 - Forçage génétique (progrès génétique x5)



L'acceptabilité sociétale en question...



ACCUEIL > SCIENCES

Des ciseaux moléculaires pour corriger les gènes: La technique CRISPR-Cas9 progrès ou dérive de la science?

20
minutes

GENETIQUE CRISPR-Cas 9 est une technique révolutionnaire qui permet, avec une grande précision, d'enlever des parties indésirables du génome pour les remplacer par de nouveaux morceaux d'ADN. Un outil très puissant qui peut nous échapper....

Fabrice Pouliquen | ⌚ Publié le 04/08/17 à 15h18 — Mis à jour le 04/08/17 à 15h20



La mutagenèse, une révolution agricole qui fait polémique

16 Mai 2017

Vous en mangez, mais savez-vous ce que c'est ? Les variétés végétales obtenues par mutagenèse sont issues de mutations génétiques ultra-sophistiquées, en développement constant. À leur propos, agriculteurs, agronomes, généticiens, écologistes s'entre-déchirent. Même aux États-Unis, l'administration a du mal à suivre. À la veille d'une décision de la Cour européenne de justice, la mutagenèse sera l'un des dossiers brûlants du futur ministre de l'Agriculture, nommé ce mercredi.



MEDIAPART

La Cour de Justice de l'Union européenne doit réglementer les « OGM cachés »

4 FÉVR. 2017 | PAR [APPEL DE POITIERS](#) | BLOG : LE BLOG DE APPEL DE POITIERS

La démarche juridique de neuf organisations de la société civile française pour obtenir un moratoire sur la vente et la culture des « OGM cachés » est désormais entre les mains de la Cour de Justice de l'Union Européenne. La décision aura une incidence sur la réglementation européenne qui encadrera les OGM issus des nouvelles techniques de manipulation génétique.

Les craintes

- Les mutations hors cible (« off target »)
 - Amélioration technologique
 - Contrôlable *a posteriori* par séquençage du génome
 - Les « manipulations » génétiques: OGM
 - OGM: organisme dont le matériel génétique a été modifié d'une manière qui ne s'effectue pas naturellement par multiplication et/ou par recombinaison naturelle.
 - Liste de technologies produisant des OGM
 - Mutagénèse aléatoire hors champ, mais vide juridique sur la mutagénèse ciblée
- ⇒ Sollicitation de la Cour de Justice de l'Union Européenne

Décision de le CJUE en Juillet 2018

- **Les organismes obtenus par mutagénèse sont OGM**
 - Pas d'interdiction couperet mais soumis aux obligations prévues par la directive sur les OGM = évaluation des risques, étiquetage
 - Exception de ceux obtenus par des techniques traditionnellement utilisées et dont la sécurité est avérée depuis longtemps
 - Règlementation possible par les EM
- Application stricte du principe de précaution et lecture juridique
 - Dans le contexte végétal et création de plantes résistantes aux herbicides
 - Qualifie la technologie, pas ses applications
- Difficilement applicable (traçabilité)
 - Problème du contrôle des animaux/produits germinaux à l'importation

Décision de le CJUE en Juillet 2018

- Des critiques
 - La subsidiarité = source de distorsion de concurrence au sein de l'UE
 - Risque de nombreux conflits
 - Plus de 3000 variétés de plantes obtenues par mutagenèse aléatoire
 - Colza & tournesol obtenus par mutagenèse aléatoire et cultivés en agriculture bio
 - La notion de *techniques traditionnellement utilisées* n'a guère de sens
 - Ne garantit pas l'absence d'effets négatifs non décelés ou indécélables en l'état des connaissances et de l'environnement du moment
 - Admet la mutagenèse aléatoire mais considère que les mutations « off target » font courir un risque
 - Des règles différentes pour des animaux identiques
 - Introgression naturelle versus assistée par Genome Editing

La suite...

- Faire évoluer le principe de précaution ?
 - Ne doit pas être castrateur
- Revoir la directive OGM ?
 - Spécificité des animaux d'élevage vs plantes
 - La dissémination involontaire n'est pas un problème majeur chez l'animal
 - Traçabilité total et création d'observatoire possible du fait de l'organisation
 - Axer la réglementation sur les applications et non pas les technologies
 - Définir une nouvelle catégorie
 - Organisme édité non transgénique = Non OGM
 - Soumis à une évaluation des risques si néo-mutation (Novel Food ?)

La suite...

- Ne pas s'engager dans l'utilisation de ces technologies ?
 - Risque d'image trop important car à l'encontre des attentes sociétales
 - Utilisation recherche uniquement
 - Travailler sur la traçabilité des animaux « génome édité »
 - Trouver des stratégies de détection permettant un contrôle à l'import
 - La modification est détectable, mais difficile/impossible de savoir s'il s'agit d'un variant naturel ou issu d'une modification du génome (sauf transgénèse)
 - Interdire l'accès au marché Européen pour les acteurs utilisant le GE
- ⇒ Débats au sein de la filière génétique des ruminants

A retenir....



**Take
home message*

- Des opportunités pour l'élevage
 - Mais des risques aussi...
 - Une technologie, mais des applications différentes
 - Applications de recherche
 - Introduction de mutations existantes dans d'autres races
 - Reproduit un phénomène naturel, pas de risques liés à la mutation
 - Création de néo-mutations
 - Reproduit un phénomène naturel mais l'effet des mutations est inconnu
 - Introduction de nouveaux gènes
 - Similaire à la transgénèse
- ⇒ Distinction essentielle pour une réglementation pertinente

A retenir....



**Take
home message*

- L'organisation des schémas se prête bien au Génome Editing
 - Peut garantir un certain confinement et un contrôle de l'édition
 - Le phénotypage des fondateurs peut être réalisé avant diffusion
- L'organisation de la filière permet de garantir un suivi des animaux
 - Recueil de performance en routine
 - Collecte d'information spécifique possible (Inséminateur, contrôleur...)
 - La centralisation des données permet de créer un observatoire
 - Suivi long terme
 - Statistiques...

Restons lucides....



**Take
home message*

- Peu d'allèles favorables à effet majeur connus chez les bovins
 - Peu de mutations d'intérêt identifiées
 - 150 mutations causales identifiées, dont 90% d'anomalies...
 - Plutôt des caractères polygéniques
 - ~300 mutations par caractère d'intérêt !
- Les interactions entre gènes
 - Le fond génétique peut modifier l'effet des allèles
- Assurer la traçabilité est crucial
 - Acceptabilité sociétale
 - Sélection génomique : risque de biais de la population de référence

Merci de votre attention

Des questions

