

Nouvelles techniques d'édition du génome et évaluation des variétés

Saisine du Comité Scientifique du CTPS



Laure Jolly, Aurélia Gouveau, Bénédicte Bakan, Virginie Bertoux, Stéphane Cordeau, Jérôme Enjalbert, Arnaud Gauffreteau, Julie Gombert, David Gouache, Anne Laperche, Valérie Leclère, Christel Leyronas, Fabrice Lheureux, Valérie Mazza, Frédéric Moquet, Delphine Tailliez, Patrice This, Anne Wagner, Christian Huyghe

Novembre 2022

Résumé exécutif

En 2007, un groupe de travail mis en place par la Commission européenne a identifié un ensemble de huit techniques de sélection des plantes (ou « N(P)BT » selon l'acronyme anglais « New (Plant) Breeding Techniques »). Parmi ces NBT, les techniques de nucléases dirigées, dont la technique CRISPR/Cas, sont dites techniques d'édition du génome. Elles permettent une chirurgie fine et précise des génomes par la création de modifications dans la séquence nucléotidique de l'ADN au niveau de cibles prédéterminées et choisies.

La Commission européenne a annoncé en 2021 une action politique sur les plantes issues de mutagenèse ciblée et de cisgénèse. Il s'agirait d'adapter les procédures d'autorisation et d'évaluation des risques ainsi que les exigences de traçabilité et d'étiquetage, tout en maintenant un haut niveau de protection de la santé et de l'environnement.

Dans ce contexte, le Ministère chargé de l'Agriculture a formellement saisi en novembre 2021 le Comité Scientifique du CTPS afin qu'il éclaire, sur la base de la littérature scientifique et technique, l'incidence de l'évolution des techniques d'édition du génome sur l'évaluation des variétés.

Evolution des NBT et des techniques d'édition du génome et incidence sur l'offre variétale

L'utilisation du système CRISPR a connu des évolutions fortes depuis 2016, date du dernier rapport du Comité Scientifique du CTPS sur le sujet, tant sur la technique elle-même que sur la méthode d'introduction de CRISPR/Cas dans les plantes.

La première évolution notable est l'élargissement de la variabilité en motifs PAMs, qui permet d'agir sur un plus large éventail de séquences ciblées sur l'ADN. Les méthodes de base editing et de prime editing permettent d'induire des modifications ciblées et choisies, d'une ou plusieurs bases à la fois. La réelle évolution est la capacité de ces méthodes de « choisir la/les bases » de façon précise, sans faire appel à des modifications aléatoires de l'ADN. L'utilisation d'une protéine Cas « inactive » permet de valoriser son action de fixation précise dans le génome, comme plateforme recruteuse d'effecteurs. Elle donne ainsi la possibilité d'agir sur l'expression des gènes. Cette méthode permet également d'exercer une action sur l'épigénome en modifiant les marques épigénétiques. La méthode de modification multiplexe permet de cibler plusieurs séquences de l'ADN, et ce, de manière simultanée. Cela ouvre la possibilité de modifier en une seule action, plusieurs cibles, et ainsi d'agir sur les voies de régulation, d'augmenter le nombre de traits édités ou d'agir sur l'expression de plusieurs gènes ou de familles multigéniques. Parmi les évolutions en devenir, le système CRISPR permet de travailler sur le réarrangement chromosomique, par l'induction d'inversion ou de translocation chromosomiques.

Plusieurs méthodes consistant à utiliser le système CRISPR sous la forme d'une ribonucléoprotéine ont été développées, permettant de se passer de l'utilisation d'un plasmide codant pour le complexe CRISPR/Cas9, et ainsi de diminuer le nombre de mutations hors cibles, grâce à son action éphémère. Pour lever les contraintes liées aux espèces récalcitrantes et à la lourdeur méthodologique de la culture *in vitro*, deux méthodes ont été développées, l'induction de novo du méristème et le « Virus-induced heritable gene editing » consistant à utiliser de l'ADN viral et sa capacité de propagation systémique et dirigée du complexe dans la plante. Actuellement les techniques utilisées en création variétale font toutefois appel à une étape de transgénèse avec insertion d'un fragment d'ADN exogène.

Il ne semble pas y avoir à ce jour de révolution majeure, parmi les matériels édités commercialisés hors de l'Union européenne. Mais des approches plus novatrices sont en cours d'étude, portant notamment sur les mécanismes de régulation. Les techniques d'édition du génome peuvent permettre de rendre plus accessibles les principales cibles de sélection (qui sont en outre travaillées avec d'autres approches de création variétale : recombinaison post-croisement, mutagenèse non ciblée, transgénèse...). La stratégie principale est d'obtenir, par mutagenèse dirigée, les effets obtenus par d'autres méthodes de mutation, l'essentiel des modifications proposées actuellement étant de type "Knockout", i.e. bloquant l'expression d'un gène. Les traits étudiés et obtenus par édition des génomes sont encore à déterminer simple, mais les perspectives d'innovation qu'offre le multiplexage dans le travail de traits plus complexes pourraient apporter de nouvelles réponses aux problématiques actuelles. Les applications de cette méthode nécessitent encore des ajustements mais l'éventail des possibilités qu'elle offre laisse présager de réelles avancées dans la création variétale.

L'évaluation des variétés issues de NBT

Les nouvelles techniques d'amélioration des plantes sont des outils prometteurs, dont on ne cerne pas encore toutes les possibilités sur l'offre variétale. Actuellement, ces outils n'ont encore développé qu'une faible gamme des applications possibles en création variétale. La possibilité de voir des caractères plus complexes accessibles aux modifications ciblées laisse présager des évolutions dans les réponses aux stress biotiques et abiotiques. Pour les traits et voies métaboliques qui bénéficient de connaissances scientifiques approfondies, la perspective d'une accélération des schémas de sélection dans les filières agricoles en fait un outil intéressant pour répondre plus rapidement aux attentes agronomiques, sociétales, industrielles et écologiques. Les services et disservices apportés par les traits agronomiques qui s'inscrivent dans une variabilité déjà existante au sein de l'espèce, et qui pourraient s'obtenir par différentes techniques de sélection, ne sont pas spécifiques à l'utilisation des NBT. Les NBT offrent un potentiel intéressant pour contribuer à la durabilité de l'agriculture via une innovation accélérée et des traits plus accessibles. Toutefois, l'utilisation massive des NBT pourrait potentiellement conduire au déploiement rapide d'un trait sur un territoire, avec éventuellement une réduction du nombre d'espèces cultivées car éditées, et induire des risques liés à l'homogénéisation de certains caractères (contournement des résistances, fragilité de l'écosystème...). Les NBT permettent également la création d'une variabilité nouvelle pouvant se manifester par des effets nouveaux, encore jamais obtenus par sélection classique, qui se caractériseraient par exemple par un taux de protéines très élevé, la libération de métabolites secondaires très exprimés, une résistance forte à un agent pathogène. Ces innovations disruptives, qui peuvent apporter des solutions à des contraintes majeures, peuvent en revanche être associées à des disservices qu'il convient d'évaluer. Enfin, les approches "gène-centré", souvent utilisées dans une logique de résolution de problèmes ciblés, ne sont généralement pas en phase avec la nécessaire amélioration d'un système de production et l'évaluation systémique et multi-caractères des innovations pour la transition agroécologique. Elles devront être combinées entre elles, ainsi qu'à d'autres leviers pour être pertinentes. Et pour être combinées, les éditions proposées devront rester compatibles avec la sélection variétale. Des modifications majeures des structures chromosomiques ou du fonctionnement cellulaire pourraient en effet rendre les croisements difficiles/impossibles avec les ressources travaillées parallèlement en sélection variétale. Vu l'importance pour la création variétale de l'utilisation en croisement des variétés nouvellement inscrites, de telles incompatibilités génétiques pourraient constituer des barrières biologiques à l'exemption du sélectionneur.

L'utilisation des techniques d'édition du génome ne remet pas en cause les principes majeurs de l'évaluation des variétés en vue de leur inscription. Si le produit est l'objet du contrôle, le CTPS est le dispositif le plus adapté à l'évaluation des traits des variétés en fonction des services qu'elles apportent aux utilisateurs, et il a déjà largement fait ses preuves dans la capacité d'intégration de nouveaux enjeux et traits. Toutefois l'évaluation des risques de disservices potentiels, telle que déployée sur les OGM, n'est pas portée par le CTPS et devra être considérée dans le cas de modifications disruptives. Ainsi il faudra veiller à faire une distinction entre les caractères édités : un caractère semblable ou proche de ce qui peut être obtenu par la sélection conventionnelle, ou un caractère nouveau très modifiant, afin d'adapter les règles applicables. Dans le cas de création de caractères disruptifs et potentiellement très impactants, il conviendra de bien caractériser les services qui pourraient être rendus et d'être transparent sur les disservices qui pourraient apparaître. Il faudra également veiller à regarder les impacts sur la culture et l'environnement de traits nouveaux, et analyser les fuites éventuelles dans l'environnement de traits disruptifs (risque d'un passage à large échelle). Si la technique est soumise à des règles spécifiques, il faudra mettre en place des procédures d'évaluation préalable, de traçabilité et de surveillance après l'inscription des variétés.

Incidence de la mise en marché de variétés issues des NBT

La possibilité d'accès au marché de variétés présentant des traits issus de techniques NBT aura pour conséquence la coexistence sur le marché de variétés issues de NBT, et de variétés non issues de NBT. En outre, contrairement aux OGM, il n'y a pas de solution facile à la détection des variétés porteuses de traits édités, dont la segmentation reposerait sur un processus lourd et coûteux (séquençage et engagement de l'ensemble des acteurs, en l'absence de méthodes de détection spécifique). Ceci nuirait au suivi de ces éditions dans le compartiment cultivé, à la détection de fuites dans le compartiment sauvage. Cette difficulté s'ajoute à celles déjà présentes chez les OGM, et rend la coexistence des filières très difficile. Pour assurer une coexistence entre variétés éditées et non éditées, la notion de traçabilité est cruciale. Dans l'hypothèse d'une mise en place de filière « NBT-free », le support du coût de la certification de ces filières sera une question à traiter en priorité. Le

risque existe de cristalliser certaines positions opposées, avec un risque de disparition de certains types de variétés. L'acceptabilité sociétale d'une offre alimentaire issue pour partie de produits de filière NBT doit être clairement prise en compte. Il est important dans les discussions et réflexions de souligner la différence entre variétés éditées et variétés OGM, de façon factuelle. La mise en marché de variétés issues des NBT peut également avoir des impacts sur les ressources phylogénétiques. Les méthodes NBT donnent accès à une infinité d'allèles, et pourraient conduire à relâcher la gestion des ressources phylogénétiques, ou à abandonner leur conservation. Il faudra être vigilant sur ce point, car l'utilisation en sélection classique de ces ressources a contribué jusqu'à présent à la résilience de l'agriculture. Dans ce contexte, il est indispensable de mieux les caractériser, pour une meilleure utilisation mais aussi pour avoir une comparaison avec les traits éditées revendiqués, et de les préserver.

La Propriété Intellectuelle des variétés issues de NBT peut relever des COV sur les variétés, des brevets sur les méthodes utilisées pour obtenir les variétés et des brevets sur les traits édités. Le déploiement des techniques d'édition des génomes, procédés faisant très majoritairement l'objet de brevets et de licences, pose des questions d'accès à la technique. Le coût d'entrée est important, conduisant à des difficultés d'accès pour certaines espèces, filières et opérateurs économiques. Ceci pourrait se traduire par une concentration des efforts de recherche sur certaines espèces, et certains types variétaux/traits, en opposition avec la diversification nécessaire pour l'agroécologie. Par ailleurs, indépendamment des nouvelles techniques d'édition du génome, il est utile de rappeler que la délivrance de brevet sur des allèles natifs découverts dans des accessions de ressources génétiques est une réalité, même si le nombre est limité. Toutefois, dans ce paysage de titres de PI, le développement des NBT et de brevets sur les traits édités conduira à un renforcement des questions liées à la propriété intellectuelle, car aboutissant potentiellement à une recrudescence des éléments brevetés dans les variétés commercialisées. Pour faciliter le travail des sélectionneurs et, en cohérence avec les besoins de traçabilité sus-cités, l'accès à l'information sur la propriété intellectuelle attachée aux variétés commercialisées, et notamment concernant les traits édités, est un enjeu d'importance. Mais une plus grande occurrence d'éléments brevetés dans les variétés pourrait conduire à de plus nombreux obstacles à l'inclusion des variétés concernées dans les programmes de sélection, avec des royalties à verser ou la nécessité d'éliminer les allèles brevetés des variétés dérivées.

En conclusion, entre 2016 et 2022, des avancées technologiques majeures, ont été développées sur les techniques d'édition du génome. Ces avancées permettent d'avoir des interventions fines, sur une plus grande diversité de cibles moléculaires, et donc de traits. Si un grand nombre de traits ont fait l'objet de travaux d'édition publiés, il s'agit surtout à ce stade de preuves de concept, sur un nombre limité d'espèces agricoles, avec peu de retombées pratiques. Il est fait l'hypothèse qu'il y a une réelle perspective d'accélération, si les considérants économiques et sociaux ne l'entravent pas. L'utilisation des techniques d'édition du génome ne remet pas en cause les principes majeurs de l'évaluation des variétés en vue de leur inscription, le CTPS sachant s'adapter à l'évaluation de caractères nouveaux. Pour les traits éditées correspondant à des caractères naturellement variables et ayant déjà fait l'objet d'étude au moment de l'inscription, il n'apparaît pas nécessaire de modifier les processus. En revanche, pour des innovations disruptives créant de nouveaux traits, il conviendrait de procéder à une évaluation qui cherchera à caractériser à la fois les services et les disservices, à une échelle de temps et d'espace adaptée au trait dont l'amélioration est revendiquée, à son usage, et à sa compatibilité avec les autres méthodes de sélection. Si la réglementation future impose un contrôle particulier selon la technique d'obtention utilisée, il sera nécessaire de mettre en place une procédure d'évaluation, de traçabilité et de surveillance après l'inscription des variétés. Pour assurer une coexistence entre variétés éditées et non éditées, la notion de traçabilité est importante. La question de l'acceptabilité sociale des plantes éditées doit clairement être posée et prise en compte. Ceci doit conduire à réfléchir aux traits dont l'édition permettrait un bénéfice largement partagé par les différents acteurs. Un autre gage de l'acceptabilité peut être l'assurance que les espèces mineures, susceptibles de contribuer à la diversification, bénéficient d'efforts de recherche et de sélection comparables, incluant ces nouvelles technologies. La question de la propriété intellectuelle est très prégnante dans la réflexion sur les NBT. Aux instruments connus qui permettent d'octroyer une propriété intellectuelle à du matériel génétique sur la base de sa caractérisation phénotypique (COV sur variété), et à une technologie d'invention industrielle (brevet sur CRISPR/Cas), s'ajoute ici la possibilité de poser des brevets sur des gènes édités, qui est déjà utilisée. Le brevet sur le vivant est une des causes de la non-acceptabilité sociétale de certaines technologies d'amélioration des plantes. Au sein du Comité Scientifique du CTPS, différents points de vue ont été exprimés sur ce sujet (i) il n'y a pas de difficulté à faire coexister les brevets sur les traits et les COV ; ii) il est recommandé de ne pas breveter les traits édités), sans qu'un consensus ne puisse être établi.