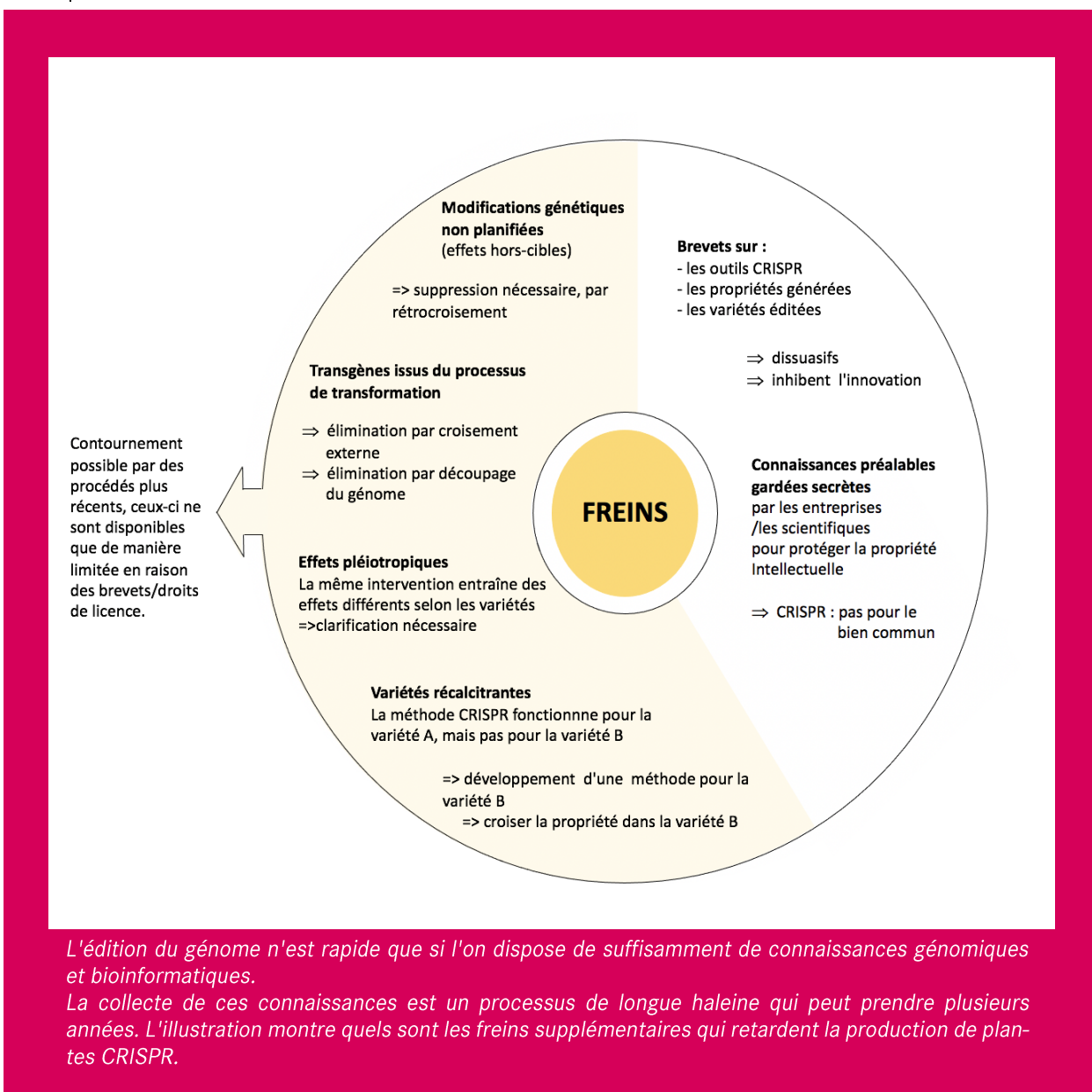


Quelle est la rapidité de CRISPR ?

La recherche sur les plantes cultivées suscite un grand enthousiasme, en particulier en raison de la rapidité avec laquelle CRISPR permet de modifier les plantes en laboratoire. Cependant, cette rapidité en laboratoire se reflète-t-elle réellement dans les programmes de sélection ? Il est souvent oublié que la mutagenèse dirigée, réalisée grâce à ces « ciseaux moléculaires » (ou édition génomique), permet avant tout de créer des variantes. Ces variantes doivent ensuite être transformées en variétés commercialisables, un processus qui peut prendre beaucoup de temps. De plus, d'autres obstacles peuvent allonger le parcours entre le laboratoire et le champ.



Les obstacles

Des clarifications de longue haleine

L'édition du génome, comparée à la sélection traditionnelle, exige une expertise bien plus poussée en génomique et en bio-informatique. CRISPR peut être rapide, mais cela ne se produit que si les sélectionneurs savent exactement quels gènes éditer et comment procéder. Cependant, la création de ces connaissances prend du temps. Prenons l'exemple de la tomate riche en acide gamma-aminobutyrique (GABA), commercialisée depuis 2021 au Japon par l'entreprise Sanatech : il a fallu dix ans de recherche pour identifier quel gène devait être modifié et comment. De même, pour le blé tolérant à l'oïdium développé par l'Académie chinoise des sciences, il a fallu huit ans aux chercheurs pour comprendre les modifications génétiques nécessaires pour obtenir cette tolérance.

Le secret plutôt que la rapidité

Connaître les gènes responsables d'un caractère végétal est essentiel pour l'édition du génome. Cependant, dans l'industrie et dans le milieu académique, il est courant de garder secrets les résultats d'expériences et les données génétiques, afin de protéger la propriété intellectuelle. Cela ralentit le processus de sélection et va à l'encontre de l'idée selon laquelle CRISPR pourrait être un outil rapide au service du bien commun.

Variétés récalcitrantes

Théoriquement, CRISPR pourrait rendre la sélection beaucoup plus rapide en permettant d'introduire des propriétés directement dans le patrimoine génétique de n'importe quelle variété. En pratique, ce n'est pas toujours le cas : les sélectionneurs ne disposent pas d'une méthode CRISPR qui fonctionne pour toutes les variétés d'une même espèce. Certaines variétés sont plus « récalcitrantes » et ne peuvent pas être modifiées avec les méthodes actuelles. Par exemple, une méthode qui réussit sur une variété A pourrait échouer sur la variété B. Dans ce cas, les sélectionneurs devront soit développer une nouvelle méthode pour la variété B, soit croiser la variété A avec la B pour transférer la propriété désirée, en utilisant la sélection traditionnelle.

Les deux approches demandent du temps, et les variétés récalcitrantes peuvent donc rendre l'édition génomique beaucoup plus longue.

Les effets multiples d'un seul gène (pléiotropie) comme frein au développement variétal

Un autre obstacle à l'édition génomique est les effets pléiotropiques, qui rendent l'introduction d'une propriété spécifique plus complexe. En effet, une même modification génétique peut avoir des effets différents selon la variété. Par exemple, la mutation produite par CRISPR qui donne la propriété souhaitée dans la variété A peut ne pas fonctionner dans la variété B, ou provoquer des effets indésirables. Si les sélectionneurs veulent malgré tout réussir avec la variété B, ils devront consacrer beaucoup de temps à comprendre comment éditer le gène

sans provoquer de conséquences inattendues.

L'élimination des transgènes, une perte de temps

Les variantes créées par CRISPR peuvent contenir des gènes étrangers (transgènes) ou des fragments de ceux-ci. Pour rendre ces variantes commercialisables, les sélectionneurs doivent éliminer ces séquences étrangères. Pour certaines espèces comme le riz, le maïs ou la tomate, cela peut être accompli par croisement, dans l'espoir que le matériel génétique non désiré sera éliminé au fil des générations. Cependant, selon la position des séquences étrangères, cela peut prendre plusieurs générations.

Pour d'autres espèces, comme les pommes de terre, les bananes, les pommes, le manioc et la vigne le processus est encore plus long, voire irréalisable, car elles ont des cycles de reproduction plus lents ou se reproduisent de manière asexuée. Dans ce cas, les transgènes doivent être retirés directement du génome, ce qui est également un processus long.

Rétrocroisement à cause de modifications non souhaitées

Les variantes créées par CRISPR contiennent souvent, en plus de la modification souhaitée, des mutations indésirables (mutations hors cible et variations somaclonales). Bien que la plupart de ces mutations n'aient pas d'effet significatif, certaines peuvent altérer les caractéristiques de la plante. Pour éliminer ces modifications non désirées et rendre la variante prête à être commercialisée, les sélectionneurs doivent effectuer plusieurs rétrocroisements qui prennent du temps.

Des techniques plus rapides uniquement pour ceux qui en ont les moyens

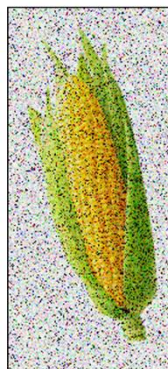
Les effets pléiotropiques, les variétés récalcitrantes, l'élimination des transgènes et les mutations indésirables font de l'édition génomique par CRISPR un processus long et complexe. Face à cela, la recherche et l'industrie ont développé de nouvelles méthodes CRISPR qui accélèrent l'édition du génome pour certaines espèces. Cependant, on ne sait pas encore qui bénéficiera de ces améliorations. Les entreprises et les institutions académiques brevètent leurs procédés, ce qui signifie que seules les entreprises disposant des moyens financiers nécessaires pourront se permettre d'utiliser ces méthodes plus rapides.

Un maquis de brevets freinant l'innovation

Non seulement les techniques utilisant CRISPR sont protégées par des brevets, mais les outils CRISPR, les caractéristiques génétiques qu'ils produisent, et même les variétés modifiées sont souvent soumises à des brevets. Plus de 2000 demandes de brevet pour l'édition du génome des plantes à l'aide de CRISPR ont été déposées à travers le monde, créant ce qu'on appelle un « maquis de brevets ». Les experts avertissent que cette prolifération de brevets peut freiner l'innovation et limiter les progrès dans la sélection des plantes.

Exemples

Utilisation du CRISPR dans l'amélioration génétique du maïs :
cas du maïs cireux et du maïs tolérant à la MLN

	<i>Maïs cireux (Corteva)</i>	
	Gain de temps par rapport à la sélection traditionnelle	
	• Selon les informations de l'entreprise:	> 1 an
	Durée de la production à la commercialization	> 8 ans
	<i>Hybride de maïs tolérant au MLN (CIMMYT & Corteva)</i>	
	Gain de temps (estimation théorique)	
	• En fonction de la source:	1 à 8 ans
	Durée – de la production à la commercialisation	
	• 2019-2025 (prévision de l'entreprise):	6 ans

En 2015, Corteva a eu recours à la technologie CRISPR pour modifier plusieurs variétés de maïs élite, supprimant la production d'amylose dans leur amidon. Ces variétés ont ainsi été transformées en maïs cireux. Comparativement à la méthode traditionnelle de sélection assistée par marqueurs, cette

approche aurait permis à l'entreprise – selon ses propres déclarations – de gagner « plus d'un an » dans le processus de développement.

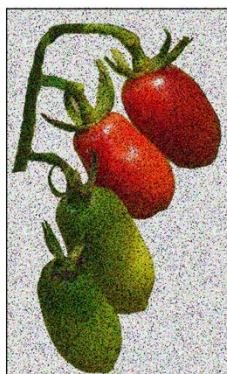
Bien que la culture commerciale du maïs cireux ait été autorisée dans plusieurs pays, dont le Canada, le Brésil, l'Argentine et les États-Unis, ces variétés issues du génie génétique ne sont toujours pas disponibles sur le marché. Par conséquent, un délai de plus de huit ans s'écoule entre la mise au point de la variété et sa commercialisation.

Tolérance à la MLN : efforts conjoints de CIMMYT et Corteva

Depuis 2019, le CIMMYT (Centre international pour l'amélioration du maïs et du blé) et Corteva collaborent à l'utilisation du CRISPR pour développer des variétés de maïs tolérantes à la nécrose létale du maïs (Maize Lethal Necrosis, MLN). À ce jour, aucune de ces variétés n'a encore été commercialisée.

Cependant, plusieurs estimations circulent quant au gain de temps que permettrait CRISPR en comparaison à la sélection assistée par marqueurs dans le cadre du développement de variétés tolérantes à la MLN. Certaines sources évoquent un raccourcissement du processus allant jusqu'à huit ans, d'autres avancent un gain de six ans. De son côté, le CIMMYT estime ce gain entre un et trois ans. Selon les projections actuelles, les premiers hybrides de maïs génétiquement modifié pour tolérer la MLN devraient être cultivés à partir de 2025.

Développement de la tomate High-GABA par Sanatech



Rouge sicilien High GABA

Durée – de la production à la commercialisation

- - avec acquisition de connaissances préalables (développement d'une tomate de laboratoire) : **14 ans**
- - sans l'acquisition de connaissances préalables, c'est-à-dire à partir de l'application à la variété d'élite "Sicilian Rouge" : **3-4 ans**

Depuis 2007–2008, des chercheurs de l'Université de Tsukuba mènent des travaux sur la production de tomates génétiquement modifiées (GM) à teneur accrue en acide γ -aminobutyrique (GABA). En 2017, ils sont parvenus à modifier une variété de laboratoire afin d'augmenter significativement sa teneur en GABA.

Dès l'année suivante, cette technique a été appliquée avec succès à une variété d'élite, Sicilian Rouge, fournie par l'entreprise Pioneer.

En 2018, les chercheurs impliqués ont fondé la société Sanatech, en partenariat avec Pioneer. En 2021, Sanatech a lancé la commercialisation en ligne de la variété GM Sicilian Rouge High GABA.

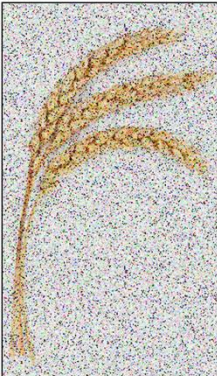
Selon les chercheurs japonais, il a été possible de générer, en seulement six mois, des variantes expérimentales dépourvues de transgènes. Pour les variétés d'élite, un rétrocroisement supplémentaire est toutefois nécessaire, prolongeant le processus de développement à une durée estimée entre un et deux ans. En comparaison, la sélection classique nécessiterait entre trois et cinq ans.

Après le riz, la tomate est l'espèce végétale la plus fréquemment modifiée par édition génomique. Cette tendance s'explique non seulement par l'importance économique de la tomate, mais également — et surtout — par les caractéristiques techniques favorables de cette espèce : transformation génétique aisée, cycle de génération court, séquence génomique de référence de haute qualité, et premières expérimentations réussies avec CRISPR dès 2014. De nombreux travaux publiés rapportent la production de tomates éditées, sans transgène, en moins d'un an.

Il convient toutefois de souligner que la rapidité de CRISPR dépend essentiellement de la connaissance préalable des gènes à cibler et des mécanismes à modifier. Une fois ces éléments identifiés, l'édition peut être appliquée directement à plusieurs variétés sans recourir à des croisements ou rétrocroisements, ce qui accélère considérablement le processus.

Dans ce contexte, la tomate High GABA de Sanatech représente l'aboutissement d'un long processus de recherche. Bien que la phase finale ait été relativement rapide grâce à CRISPR, les travaux initiaux sur l'enrichissement en GABA ont débuté plus d'une décennie auparavant, pour aboutir à la commercialisation de la variété en 2021.

Développement accéléré de blé tolérant à l'oïdium grâce à CRISPR



Blé tolérant au mildiou (Chine)

Durée jusqu'à la variété d'élite

- avec l'acquisition de connaissances préalables en laboratoire (variétés à rendements inférieurs): **14 ans**
- sans l'acquisition de connaissances préalables (à partir du moment où les causes génétiques des rendements moindres ont été trouvées): **4-5 ans**

En 2022, des chercheurs de l'Académie chinoise des sciences ont rapporté avoir obtenu, en moins de trois mois, des lignées de blé tolérantes à l'oïdium (également appelé mildiou) par édition génomique utilisant la technologie CRISPR. Selon la plateforme [swissfood.ch](https://www.swissfood.ch), cet

exemple illustre de manière marquante la rapidité potentielle de CRISPR dans le développement de nouvelles variétés.

Les chercheurs estiment que ce blé pourrait être introduit en culture commerciale sous forme de variété d'ici quatre à cinq ans.

Ce même groupe avait déjà, en 2014, développé une souche de blé résistante à l'oïdium à l'aide de la technologie TALEN. Toutefois, les rendements de ces plantes s'étaient révélés insuffisants, ce qui avait empêché leur développement commercial. Ce n'est qu'après huit années de recherche approfondie sur les bases génétiques de la résistance que les scientifiques sont parvenus à produire des plantes tolérantes sans compromis sur le rendement. Ce cas souligne une fois de plus que la rapidité de CRISPR dépend essentiellement de la connaissance préalable des gènes à cibler et de leur fonction. Une fois ces données acquises, l'édition génomique permet d'introduire efficacement des caractères d'intérêt, tels que la tolérance à l'oïdium, dans un grand nombre de variétés d'élite, et ce en un temps considérablement réduit.

Laitue romaine GVR-110XL :



Laitue romaine GVR-110XL (GreenVenus)

Développement de la variété jusqu'à la commercialisation (2015-2021):

- selon les informations fournies par l'entreprise **6 ans**

=> Raison: méthodes de transformation déjà disponibles pour la variété de base

un exemple d'édition génomique appliquée à la conservation post-récolte

En 2015, la société GreenVenus a mis au point deux variétés de laitue romaine, GVR-108XL et GVR-110XL, caractérisées par une meilleure conservation post-récolte grâce à une réduction du brunissement. Les

demandes d'obtention végétale pour ces variétés ont été déposées aux États-Unis en 2020, ce qui suggère une durée de développement d'environ cinq ans.

Dans ce contexte, un communiqué de presse de GreenVenus publié en 2019 semble présenter une contradiction. L'entreprise y affirme : « Nous sommes heureux de faire progresser rapidement notre laitue GreenVenus™ avec un rendement commercialisable et une durée de vie en magasin améliorés, du concept aux essais commerciaux dans un délai de deux ans. » La variété GVR-110XL est aujourd'hui commercialisée, avec un lancement initialement prévu pour 2021. Ce développement relativement rapide s'explique probablement par deux facteurs principaux.

Premièrement, la laitue romaine est réputée pour sa facilité de transformation génétique, notamment via *Agrobacterium tumefaciens*, ce qui facilite également l'application de l'édition génomique. La plateforme de transformation utilisée dans ce cas, développée sur le site de Green Forest, est en place depuis 2005 et a servi de base au développement des variétés GVR-108XL et GVR-110XL.

Deuxièmement, les ressources financières allouées au projet ont vraisemblablement permis d'accélérer les étapes du développement. En effet, Randal J. Kirk, milliardaire et propriétaire de TS Biotechnology Holdings, est à l'origine de l'investissement dans ces variétés. Le financement n'a donc pas constitué un facteur limitant dans ce processus.

Conscious Greens de Pairwise : un exemple de rapidité dans le développement de variétés par CRISPR

La production des Conscious Greens (feuilles vertes et violettes croquantes de Brassica juncea, chou élané) constitue un exemple remarquable de l'efficacité du CRISPR dans le développement de nouvelles variétés végétales. Selon les informations disponibles, cette variété aurait été produite entre 2019 et 2020, et sa commercialisation est prévue à partir de 2023.

Plusieurs facteurs expliquent la rapidité de ce processus :

1. Expertise en CRISPR : Parmi les fondateurs de Pairwise, on compte des chercheurs ayant des brevets sur la technologie CRISPR, ce qui a permis une mise en œuvre accélérée de l'édition génomique.
2. Soutien financier conséquent : Depuis sa création en 2018, Pairwise a reçu 200 millions de dollars américains en financement. Ce budget substantiel a joué un rôle crucial en permettant un développement rapide sans que les ressources financières ne constituent un frein.

Cet exemple montre que, lorsque les ressources techniques et financières sont réunies, CRISPR peut offrir des avantages significatifs en termes de rapidité dans le développement de nouvelles variétés agricoles.

Données sur la durée de la création variétale par des méthodes traditionnelles et par CRISPR (en années)

Culture traditionnelle	CRISPR	Gain de temps	Source	
7–8	2–3	4–6	Dhugga (2002)	
8–10	2–5	3–8	Gao (2021)	
4–5	2–3	1–3	CIMMYT	
6–10	2–3	3–8	Johnmark et al. (2022)	
7–10	5	2–5	Grushkin (2016)	
8–10	3–4	4–7	Kock (2021)	
5–7	<1	4–6	swiss-food.ch	Tomate
10	1	9	swiss-food.ch	Blé
10	3 Mois	>9	Swiss-food.ch	Blé

Dhugga KS 2022 Gene editing to accelerate crop breeding. *Frontiers in Plant Science*, 13: 889995.

Gao C 2021 Genome engineering for crop improvement and future agriculture. *Cell*, 184 (6):1621–1635.

CIMMYT. MLN Gene Editing Project. <https://www.cimmyt.org/projects/mln-gene-editing-project/>

Johnmark O, Indieka S, Liu G, Gowda M, Suresh LM, Zhang W, Gao X 2022 Fighting death for living: Recent advances in molecular and genetic mechanisms underlying maize lethal necrosis disease resistance. *Viruses*, 14 (12): 2765.

Grushkin D 2016 DuPont in CRISPR-Cas patent land grab. *Nature biotechnology*, 34 (1): 13–14.

Kock MA 2021 Open intellectual property models for plant innovations in the context of new breeding technologies. *Agronomy*, 11 (6): 1218.

Plantes CRISPR produites par des entreprises avant 2020, qui "devraient" déjà être sur le marché en raison de la "rapidité" de CRISPR et état de leur commercialisation, situation en mars 2023.

Les retards par rapport à la date de commercialisation annoncée ne sont pas rares. L'expérience montre que les plantes CRISPR disparaissent souvent des recherches et développements des entreprises productrices sans justification ou sont retirées après leur commercialisation.

Plante	Nom de la variété/du produit	Propriété	Compagnie	Année de la transformation	Année de la commercialisation
Tabouret des champs	Golden Pennycress		CoverCress	2018(?)	n.-c.
Lin	–	résistance aux herbicides	Cibus	2016	n.-c.
Caméline	E3008	teneur élevée en huile	Yield10 Bioscience	2016	n.-c.
Caméline	E3902	teneur élevée en huile	Yield10 Bioscience	2017	n.-c.
Maïs	Waxy Corn	amidon sans amylose	Corteva	2015	n.-c.
Maïs	–	tolérance au NLB	Corteva	2016	n.-c.
Laitue romaine	GVR-110XL	durée de conservation prolongée	GreenVenus	2015	2021
Chou élané	Conscious Greens		Pairwise	2020	2023
Tomate	Sicilian Rouge High GABA	teneur élevée en GABA	Sanatech	2018	2018

n.-c. : non-commercialisé

Glossaire

Rétrocroisement : Le rétrocroisement est une technique de croisement génétique qui consiste à hybrider un descendant avec l'un de ses parents afin d'éliminer certaines variantes génétiques indésirables du génome, souvent par recombinaison. Cette méthode est notamment utilisée pour supprimer des modifications non planifiées du patrimoine génétique, telles que celles qui peuvent résulter de l'intervention de CRISPR.

Variétés élités : Les variétés élités désignent des variétés modernes de plantes cultivées qui résultent d'un long processus de sélection. Ce processus implique la culture et le croisement successif de différentes variétés afin de réunir toutes les caractéristiques souhaitées dans une seule plante. Après plusieurs cycles de croisement et de sélection, la plante la plus performante, possédant toutes les propriétés requises, est sélectionnée comme variété élite. Cette dernière est ensuite multipliée, et parmi ses descendants, on procède à une nouvelle sélection pour identifier les individus optimaux. Ce processus peut prendre plusieurs années, voire des décennies. Toutefois, en raison de la sélection intensive de certaines caractéristiques (comme le rendement), ces variétés peuvent présenter une capacité d'adaptation limitée aux changements environnementaux.

Le génie génétique permet d'introduire rapidement et de manière ciblée des traits provenant de variétés traditionnelles ou d'espèces sauvages apparentées dans les variétés élités. Cette approche vise à combiner les avantages de la sélection classique et de l'édition génétique pour améliorer l'adaptabilité et la performance des cultures.