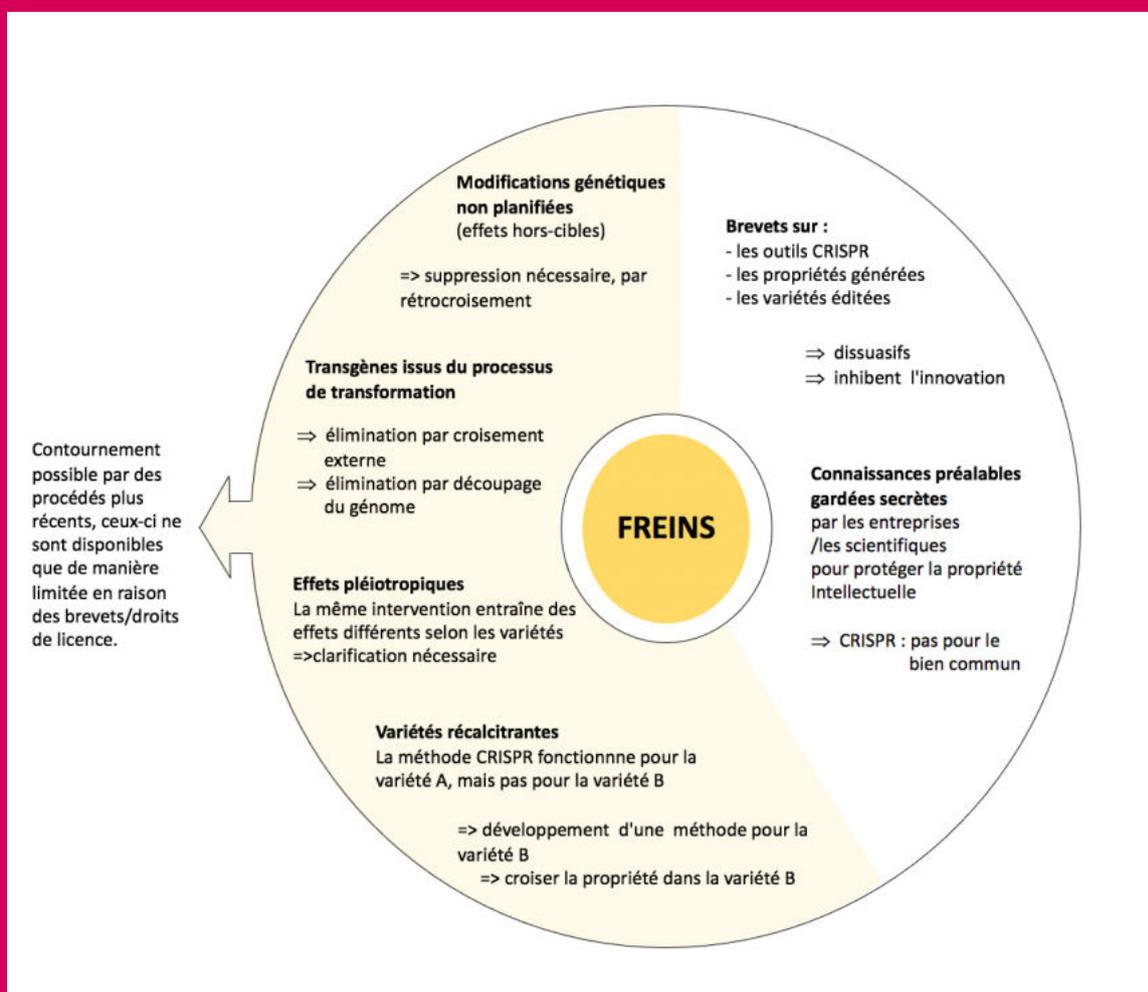


## Quelle est la rapidité de CRISPR ?

Lorsqu'il s'agit de CRISPR, la recherche sur les plantes cultivées est enthousiaste. C'est surtout la rapidité avec laquelle les plantes peuvent être modifiées en laboratoire qui fascine les chercheurs. Mais cette rapidité en laboratoire se retrouve-t-elle dans les programmes de sélection ? On oublie souvent que la mutagenèse dirigée des plantes en laboratoire à l'aide de ces ciseaux moléculaires (aussi appelée l'édition du génome) permet d'abord de créer des variantes qu'il faut ensuite transformer en variétés commercialisables, ce qui peut prendre beaucoup de temps. Et on oublie aussi souvent qu'il existe divers freins supplémentaires qui prolongent le chemin du laboratoire au champ.



*L'édition du génome n'est rapide que si l'on dispose de suffisamment de connaissances génomiques et bioinformatiques.*

*La collecte de ces connaissances est un processus de longue haleine qui peut prendre plusieurs années. L'illustration montre quels sont les freins supplémentaires qui retardent la production de plantes CRISPR.*

# Freins

---

## Des clarifications de longue haleine

Par rapport à la sélection traditionnelle, l'édition du génome nécessite des connaissances génomiques et bio-informatiques bien plus importantes. Le CRISPRing ne peut être rapide que si les sélectionneurs savent quel(s) gène(s) du patrimoine génétique d'une variété doivent être édités et comment.

La création de connaissances prend du temps. Dans le cas de la tomate riche en acide gamma-aminobutyrique GABA, commercialisée depuis 2021 par l'entreprise Sanatech au Japon, il a par exemple fallu dix ans de recherche pour savoir quel gène de la tomate devait être modifié et comment. De même, pour le blé tolérant à l'oïdium de l'Académie chinoise des sciences, qui a fait couler beaucoup d'encre, il a fallu huit ans aux chercheurs pour savoir quelles modifications du patrimoine génétique permettraient d'atteindre la tolérance.

---

## Le secret plutôt que la rapidité

Connaître les gènes à l'origine d'un caractère végétal donné est une condition préalable à l'édition du génome. Le fait de garder secrets les données génétiques et les résultats des expériences d'édition du génome afin de protéger la propriété intellectuelle, comme c'est généralement le cas dans l'industrie et dans le milieu universitaire, freine la sélection et va à l'encontre du message des acteurs selon lequel CRISPR rapide sert le bien commun.

---

## Variétés récalcitrantes

Pouvoir introduire des propriétés directement dans le patrimoine génétique de n'importe quelle variété - en théorie, cela fait de CRISPR un outil de sélection rapide. Mais la pratique est différente : les sélectionneurs ne disposent pas toujours d'un procédé CRISPR applicable à n'importe quelle variété d'une espèce cultivée. Au contraire, les sélectionneurs rencontrent souvent des "variétés récalcitrantes" qui ne peuvent pas être modifiées avec les méthodes existantes. En résumé : les méthodes CRISPR qui réussissent pour la variété A peuvent échouer pour la variété B. Les conséquences : si les sélectionneurs souhaitent tout de même introduire la propriété visée dans la variété B, ils doivent soit développer une méthode CRISPR pour la variété B, soit éditer d'abord la variété A et ensuite croiser la propriété dans la variété B à partir de cette variété en utilisant la sélection traditionnelle.

Comme les deux méthodes prennent du temps, les variétés récalcitrantes peuvent faire de l'édition du génome un processus de longue haleine.

---

## Effets multiples à partir d'un seul gène comme frein

Outre les variétés récalcitrantes, les effets pléiotropiques freinent également l'édition du génome. En effet, ils font que l'idée selon laquelle on peut introduire des propriétés directement dans le patrimoine génétique d'une variété quelconque ne correspond pas forcément à la réalité. En effet, les effets pléiotropiques font qu'une même modification du patrimoine génétique entraîne des effets différents selon la variété. En bref : la mutation

produite par CRISPR qui conduit à la propriété souhaitée chez la variété A peut échouer chez la variété B, soit parce que la propriété visée n'apparaît pas, soit parce que des caractéristiques indésirables apparaissent en plus. Si les sélectionneurs souhaitent malgré tout réussir avec la variété B, ils devraient poursuivre leur travail de fond et déterminer, en y consacrant beaucoup de temps, si et comment la propriété souhaitée peut être éditée avec CRISPR sans effets pléiotropiques.

---

### **L'élimination des transgènes, une perte de temps**

En raison du processus, les variantes créées par CRISPR contiennent souvent des gènes étrangers à l'espèce (transgènes) ou des fractions de ceux-ci dans leur patrimoine génétique. Si les cultivateurs veulent faire de la variante une variété commercialisable, ils doivent supprimer les séquences étrangères à l'espèce. Pour certaines espèces cultivées comme le riz, le maïs, le soja ou la tomate, on y parvient par ségrégation, c'est-à-dire par croisement de la variété modifiée avec la variété parente non modifiée ou avec la variété modifiée en espérant que le croisement supprime le matériel génétique non souhaité. Selon la position des séquences étrangères à l'espèce dans le patrimoine génétique des variantes, la ségrégation peut réussir en une génération. Mais elle peut aussi prendre beaucoup de temps et durer plusieurs générations - par exemple lorsque des séquences étrangères à l'espèce se trouvent à plusieurs endroits dans le patrimoine génétique des variantes.

Pour les espèces cultivées telles que les pommes de terre, le manioc, les pommes, les bananes et la vigne, qui ont des cycles de génération longs ou une reproduction asexuée, l'élimination des transgènes via la ségrégation prend tellement de temps qu'elle n'est pas réalisable. Dans ce cas, les transgènes doivent être découpés dans le patrimoine génétique, ce qui prend également beaucoup de temps.

---

### **Longs croisements inversés en raison de modifications génétiques non planifiées**

En raison du processus, les variantes créées par CRISPR contiennent, en plus de la modification souhaitée, des modifications non désirées dans leur patrimoine génétique (mutations hors cible et variations somaclonales). Alors que la plupart de ces modifications non souhaitées n'ont pas d'effet ou un effet négligeable sur les propriétés variétales de la variante, certaines peuvent les dégrader. Pour éliminer ces modifications indésirables et faire de la variante créée par CRISPR une variété commercialisable, les sélectionneurs doivent procéder à de longs rétrocroisements.

---

### **CRISPR rapide seulement pour de l'argent supplémentaire**

Les effets pléiotropiques, les variétés récalcitrantes, l'élimination des transgènes et les modifications non désirées du patrimoine génétique font de l'édition du génome par CRISPR une entreprise laborieuse et chronophage. C'est pourquoi la recherche et l'industrie ont récemment développé de nouveaux procédés CRISPR qui permettent de surmonter les goulets d'étranglement et d'accélérer l'édition du génome, du moins pour certaines espèces cultivées. Mais on ne sait pas encore qui profitera de ces processus optimisés. Étant donné que les entreprises et les institutions académiques font breveter

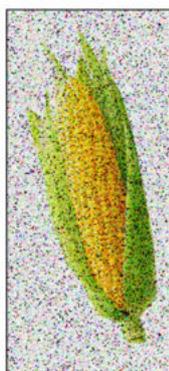
leurs procédés, seules les entreprises de sélection qui peuvent se permettre de payer les frais de licence supplémentaires utiliseront le CRISPR plus rapide.

### Freiné dans le maquis des brevets

Non seulement les méthodes de CRISPRing rapide sont brevetées, mais les outils CRISPR, les caractéristiques qu'ils produisent et même les variétés modifiées sont également protégées par des brevets. Plus de 2000 demandes de brevet pour le CRISPRing sur les plantes ont été déposées dans le monde entier. Les spécialistes ont récemment parlé d'un énorme maquis de brevets et mettent en garde contre le fait que les revendications des entreprises qui y sont liées ont un effet dissuasif et freinent l'innovation. Les progrès en matière de sélection sont ainsi entravés.

## Exemples

### Maïs cireux de Corteva et maïs tolérant au MLN de CIMMYT et Corteva



#### **Maïs cireux (Corteva)**

**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**

#### **Hybride de maïs tolérant au MLN (CIMMYT & Corteva)**

**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 utilisé CRISPR pour modifier plusieurs variétés de maïs d'élite afin que leur amidon ne contienne pas d'amylose, les transformant ainsi en variétés de maïs cireux. Par rapport à la production de maïs cireux avec une sélection assistée par marqueurs, le

groupe a économisé - selon ses propres termes - "plus d'un an".

Bien que plusieurs pays - dont le Canada, le Brésil, l'Argentine et les États-Unis - aient autorisé la culture commerciale du maïs cireux, cette variété high-tech n'est toujours pas disponible sur le marché. Il faudra donc attendre plus de 8 ans entre la production et la commercialisation.

**Maïs tolérant à la MLN de CIMMYT et Corteva** CIMMYT et Corteva ont commencé en 2019 à utiliser CRISPR pour la production de variétés de maïs tolérantes à la maladie Maize Lethal Necrosis (MLN). Jusqu'à présent, aucune variété n'a été commercialisée. Ce qui existe cependant, ce sont des spéculations sur la rapidité de CRISPR par rapport à la culture assistée par marqueurs de variétés de maïs tolérantes à la MLN. Dans la littérature, les uns parlent d'un gain de temps allant jusqu'à 8 ans grâce à CRISPR. D'autres estiment un gain de temps de 6 ans. CIMMYT, quant à lui, estime que le gain de temps se situe entre 1 et 3 ans. CIMMYT prévoit que les premiers hybrides de maïs édités tolérants à la MLN seront dans les champs en 2025.

## Tomate High-GABA de 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

A l'Université de Tsukuba, des chercheurs travaillent depuis 2007/2008 sur la production de tomates transgéniques à teneur accrue en GABA. En 2017, les chercheurs ont réussi à modifier une variété de tomate de laboratoire de manière à ce qu'elle produise plus de

GABA. Un an plus tard, ils ont appliqué avec succès cette méthode à la variété d'élite "Sicilian Rouge" mise à disposition par Pioneer.

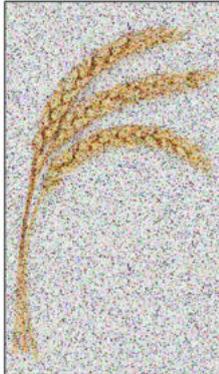
En 2018, les chercheurs impliqués ont fondé la société Sanatech en collaboration avec Pioneer. En 2021, Sanatech a lancé la vente en ligne de la variété éditée "Sicilian Rouge High Gaba".

Selon les chercheurs japonais, il a été possible de produire des variantes modifiées et exemptes de transgènes en l'espace de six mois pour la variété expérimentale. Pour les variétés élites, un rétrocroisement supplémentaire est nécessaire. La production de la tomate Sanatech aurait donc duré 1 à 2 ans, contre 3 à 5 ans pour la culture traditionnelle.

Après le riz, la tomate est l'espèce végétale la plus souvent modifiée. Cela s'explique d'une part par l'importance économique de la tomate. D'autre part - et c'est probablement la raison la plus importante - c'est aussi dû au fait que CRISPR est très simple pour la tomate en comparaison avec d'autres espèces (facile à transformer, temps de génération court, séquences génomiques disponibles en gold standard, première tomate CRISPR déjà en 2014). Dans la littérature, on trouve plusieurs exemples de tomates éditées sans transgène, qui ont pu être produites en moins d'un an.

CRISPR ne peut être rapide que si l'on sait quels gènes doivent être modifiés et comment. Une fois cette connaissance acquise, CRISPR est surtout rapide, car les modifications peuvent être produites dans plusieurs variétés sans croisement/rétrocroisement. De ce point de vue, la tomate Sanatech est le fruit d'un long cheminement, puisque les travaux visant à produire une tomate riche en GABA ont débuté en 2007-2008, mais n'ont abouti à une variété commercialisée qu'en 2021.

## Du blé tolérant au mildiou en 3 mois ?



**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 décrivent comment ils ont pu produire en laboratoire du blé tolérant à l'oïdium en moins de trois mois grâce à CRISPR. Selon swissfood.ch, il s'agit donc d'un exemple de la rapidité de CRISPR.

Les chercheurs estiment que leur blé pourrait arriver dans les champs sous forme de variété d'ici quatre à cinq ans.

En 2014, le même groupe de travail avait déjà produit du blé tolérant à l'oïdium avec TALEN. Mais comme les plantes avaient alors des rendements inférieurs, elles n'avaient pas pu être développées en variétés. Ce n'est qu'aujourd'hui - 8 ans plus tard et après des recherches approfondies sur les causes génétiques - qu'il aurait été possible d'éditer du blé de manière à ce qu'il soit tolérant à l'oïdium sans perte de rendement.

Le blé résistant à l'oïdium est donc un nouvel exemple qui montre que CRISPR ne peut être rapide que lorsque l'on sait quels gènes doivent être modifiés et comment. Mais si les connaissances sont là, la résistance à l'oïdium peut être rapidement introduite dans de nombreuses variétés d'élite.

## 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**

En 2015, l'entreprise GreenVenus a produit deux variétés de laitue romaine, GVR-108XL et GVR-110XL, qui se conservent plus longtemps parce qu'elles brunissent moins vite après la récolte. Les deux variétés ont fait l'objet d'une demande d'obtention végétale aux États-

Unis en 2020. Le développement de la variété a donc duré environ 5 ans.

Dans ce contexte, la déclaration de l'entreprise dans un communiqué de presse de 2019 semble contradictoire. On peut y lire : "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 2 ans".

La variété GVR-110XL est actuellement commercialisée. Le début de la commercialisation était prévu pour 2021. La production de GVR-110XL a probablement été "rapide" pour deux raisons. D'une part, la laitue romaine est généralement facile à modifier

génétiquement avec des agrobactéries, ce qui facilite également l'édition du génome. La méthode de transformation de Green Forest, le site d'origine du GVR-108XL et du GVR-110XL, existe déjà depuis 2005.

D'autre part, le milliardaire Randal J. Kirk, propriétaire de TS Biotechnology Holdings, est à l'origine du développement de GVR-108XL et de GVR-110XL. Le budget pour le développement de la variété n'a donc pas dû être un facteur limitant.

---

### **Conscious Greens de Pairwise**

La production de Conscious Greens (feuilles vertes et violettes croquantes du chou élané *Brassica juncea*) est un exemple qui montre que le CRISPRing peut aller vite. La variété devrait avoir été produite en 2019-2020 et sera commercialisée à partir de 2023. Les raisons pour lesquelles cela a été rapide :

- Parmi les fondateurs de Pairwise figurent des chercheurs qui possèdent des brevets sur CRISPR.
- Pairwise a reçu 200 millions de dollars américains depuis sa création en 2018. Le budget pour le développement de la variété n'a donc pas dû être un facteur limitant ici non plus.

## 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, Indleka 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

**Le rétrocroisement :** Le rétrocroisement consiste à croiser un descendant avec un parent afin d'éliminer certaines variantes génétiques du génome par recombinaison - par exemple des modifications non planifiées du patrimoine génétique causées par l'intervention CRISPR.

**Variétés élités :** les variétés élités sont des variétés modernes de plantes cultivées qui sont le résultat d'un long processus de sélection. Au cours de ce processus, différentes variétés sont plantées et croisées entre elles. Ainsi, grâce à des années de croisement et de sélection, toutes les propriétés souhaitées des plantes de départ sont réunies dans une seule plante. Celle-ci est ensuite multipliée et, parmi ses descendants, on choisit à nouveau, après des années de sélection, les plantes optimales qui possèdent toutes les propriétés nécessaires pour pouvoir s'imposer sur le marché en tant que variété d'élite. Étant donné que l'on sélectionne fortement certaines propriétés (par exemple le rendement) lors de la culture, les variétés élités sont souvent hautement sélectionnées et leur capacité d'adaptation aux changements environnementaux est négligée. Avec le génie génétique, on essaie d'introduire ponctuellement et rapidement dans les variétés élités des propriétés provenant de variétés de pays ou d'espèces sauvages apparentées.