

## On modifie le génome d'insectes afin d'éradiquer des maladies infectieuses qui ravagent la population humaine et l'agriculture.

Un extraterrestre qui viendrait sur la Terre reconnaîtrait certainement que l'homme est l'espèce dominante de la planète. Cependant, après quelques observations sur le terrain qui lui montreraient que les individus appartiennent à des espèces qui se regroupent en genres, en familles, en ordres, en classes, en embranchements et en règnes, il placerait probablement en première position la classe des insectes : on en a identifié plus d'un million d'espèces, soit les cinq sixièmes de l'ensemble des espèces présentes sur la Terre, et les entomologistes pensent qu'il en reste trois millions encore inconnues. Les insectes ont une importance économique considérable (certains pollinisent les récoltes, par exemple ; d'autres les ravagent), et leur rôle en santé humaine n'est pas moindre.

Quelques espèces d'insectes, tels les hématophages (étymologiquement, «qui mangent du sang»), propagent des maladies animales, mais aussi des maladies humaines souvent mortelles, telles que le paludisme, la fièvre jaune, les trypanosomiasés et la dengue. Le paludisme frappe près de 300 à 500 millions de personnes par an, et il en tue 1,5 à 2,7 millions. Environ 200 000 personnes contractent la fièvre jaune chaque année, et 30 000 en meurent. Près de 50 millions de personnes contractent la dengue chaque année ; la mortalité atteint 15 pour cent en l'absence de traitement. Dans de nombreux pays en développement, des infections débilitantes telles que la dysenterie sont transmises par des insectes, y compris la mouche commune.

Aujourd'hui, les systèmes de santé publique luttent contre ces maladies de trois façons : la désinsectisation totale des zones infestées, l'utilisation de répulsifs chimiques (insecticides) et physiques (moustiquaires), et la mise au point de vaccins. La désinsectisation a donné de bons résultats dans certaines régions ; les répulsifs sont médiocrement efficaces, et les vaccins restent insuffisamment nombreux. À ces trois moyens de lutte, peut-on en

ajouter un quatrième, qui consisterait à éviter la transmission de la maladie par les insectes ?

Les morsures d'insectes, en elles-mêmes, ont peu de conséquences sur la santé : seuls les virus, les protozoaires ou les filaires (des vers fins et plats) qu'ils transmettent sont les agents pathogènes. Peut-on éviter leur transmission ?

Dès les années 1960, au Collège d'hygiène et de médecine tropicales de Londres, Chris Curtis proposa l'éradication du paludisme par la transformation génétique de son vecteur, les moustiques du genre *Anophèle*, en une forme qui ne transmettrait pas les protozoaires *Plasmodium*, vrais responsables de la maladie. On connaît des moustiques naturellement réfractaires au *Plasmodium* ou incapables de le transmettre. Les techniques actuelles de génie génétique permettront bientôt la mise en œuvre des idées de C. Curtis : on sait aujourd'hui intégrer le matériel génétique d'une espèce dans l'ADN d'individus d'autres espèces et modifier ainsi les caractéristiques des espèces receveuses. Les plantes ou les animaux ainsi obtenus sont dits transgéniques.



**3. LA MOUCHE DES FRUITS** de gauche a retrouvé la couleur naturelle de ses yeux par transgénèse. Les mutants aux yeux blancs (à droite) produisent le pigment rouge, mais ce dernier n'est pas transporté jusque dans les yeux. La mouche aux yeux rouges (à gauche) a reçu une séquence génétique nommée *piggyBac*, à laquelle on avait ajouté le gène qui assure le transport du pigment vers les yeux. La séquence *piggyBac* est un transposon : elle s'est spontanément intégrée au génome.



**2. LES MOUCHES DES FRUITS** ravagent les récoltes de café en attaquant les cerises du caféier. On utilise la transgénèse pour lutter contre ce type de fléau. Les méthodes génétiques de lutte contre la mouche des fruits, appliquées dans l'ensemble des pays producteurs, permettent déjà des économies s'élevant à plusieurs milliards de francs par an.

Les insectes transgéniques auraient bien d'autres applications que la médecine. L'insertion de gènes codant des produits utiles dans le génome de vaches et de chèvres a déjà permis la création d'animaux produisant des médicaments dans leur lait. Appliquée aux insectes, la technique des organismes transgéniques modifierait fondamentalement l'agriculture et la synthèse de certaines matières, par exemple le plastique.

### Des gènes sauteurs

Dans les années 1960, les entomologistes utilisaient davantage la transgénèse pour analyser les gènes que pour des applications techniques. Pour modifier les génomes, on injectait de l'ADN dans un œuf d'insecte ou l'on plongeait

des œufs dans une solution d'ADN. Ces techniques étaient très inefficaces.

Puis, dans les années 1980, à l'Institut Carnegie de Washington, Gerald Rubin et Alan Spradling ont étudié chez les insectes d'étranges segments d'ADN nommés éléments transposables, ou transposons, qui se séparent continuellement des chromosomes et se ressouident à des chromosomes voisins. Ces «gènes sauteurs» avaient été découverts dans les années 1940 par la généticienne Barbara McClintock (prix Nobel en 1983 pour cette découverte).

Le transposon qu'ont étudié G. Rubin et A. Spradling provenait du génome de la mouche du vinaigre, *Drosophila melanogaster*. Sans impact sur l'agriculture, cette mouche est couramment utilisée dans les laboratoires de génétique depuis 70 ans.

Compte tenu de la propension des transposons à s'intégrer aux chromosomes, les généticiens ont eu l'idée d'y fixer le gène étranger destiné à la mouche. Ils ont alors introduit dans une cellule un transposon modifié qui s'est intégré à son chromosome, créant ainsi une mouche *Drosophila melanogaster* transgénique.

Le transposon de la drosophile, l'«élément P», avait été découvert dans les années 1970, lorsque les généticiens ont étudié les anomalies de développement, les mutations et les chromosomes de descendance issus de croisements entre des mâles d'une population et des femelles d'autres populations. Comme les entités génétiques en cause provenaient exclusivement de la lignée paternelle, elles ont été surnommées facteurs P. Identifié finalement comme étant un transposon, le facteur P a été renommé élément P ; il a servi d'outil pour l'étude des gènes isolés de la drosophile et leurs effets.

Malheureusement, en 1986, l'un de nous (D. O'Brochta) et son collègue Alfred Handler ont montré que l'élément P ne s'insère pas facilement dans d'autres espèces ; il n'a donc qu'une faible valeur pratique.

Les biologistes ont alors recherché des transposons fonctionnels dans des cas plus généraux. La plupart des chercheurs croyaient qu'il fallait s'en tenir à ce qui avait déjà fait ses preuves et chercher des transposons ressemblant à l'élément P : des éléments transposables à courte séquence inversée répétée. Notre laboratoire a mis au point des techniques de détermination rapide des capacités d'intégration

d'un transposon dans l'ADN d'une espèce d'insecte. Les premières tentatives avec des transposons ayant des structures similaires à celle de l'élément P ont confirmé la pertinence du choix de rester en terrain connu.

En 1995, Charalambos Savakis et ses collègues de l'Institut crétois de biologie moléculaire et de biotechnologie ont inséré avec succès un nouveau gène dans la mouche des fruits grâce à un transposon nommé *Minos*, isolé à partir de *Drosophila hydei*. Ils ont créé ainsi la première version transgénique de cette mouche. Elle avait des yeux rouges, alors que les individus

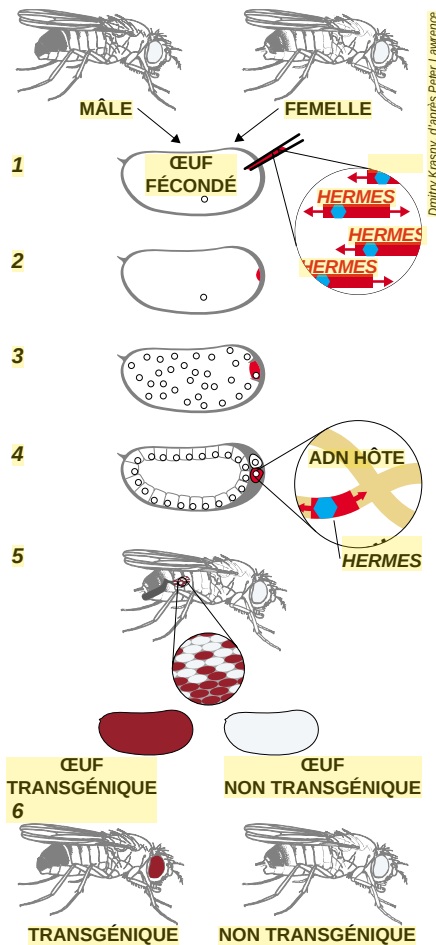
naturels possèdent des yeux incolores. Par la suite, A. Handler et ses collègues ont transféré à des mouches des fruits à l'œil non pigmenté le gène codant la pigmentation des yeux en utilisant un transposon nommé *piggyBac*, issu d'une chenille, l'arpenteuse du chou.

En 1998, Anthony James et ses collègues de l'Université de Californie ont effectué deux transformations chez le moustique *Aedes aegypti*, qui transmet la fièvre jaune et la dengue. La transformation de cet insecte donne aux généticiens l'espoir de bientôt désarmer ce vecteur de maladie. Tout d'abord, les généticiens ont modifié *Aedes aegypti* à l'aide d'un transposon nommé *Hermes*, isolé de la mouche domestique. Contrairement à l'élément P, *Hermes* est un vecteur efficace pour la création de toute une variété d'insectes transgéniques, des papillons aux moustiques. Son utilisation permet de mieux comprendre la biochimie de la mobilité et de la régulation des transposons. A. James et son équipe ont ensuite incorporé dans *Aedes aegypti* un transposon nommé *Mariner*, isolé à partir de la mouche du vinaigre *Drosophila mauritiana*. Le seul effet a été, une fois de plus, la modification de la couleur des yeux.

Barry Beaty et ses collègues de l'Université du Colorado ont alors complété ces travaux en bloquant la prolifération du virus de la dengue dans *Aedes aegypti*. Plus précisément, ils ont infecté ce moustique à l'aide d'un virus porteur d'un gène qui empêche la réplication du virus de la dengue dans les glandes salivaires du moustique. L'infection par le virus de la dengue est ainsi bloquée ; une piqûre de ce moustique est inoffensive.

Ces recherches montrent la faisabilité de la transformation génétique des insectes. Comment assurer ensuite la dissémination des gènes introduits ? Il serait trop long d'attendre que quelques individus modifiés engendrent des descendants.

En revanche, les transposons permettent la création rapide d'une population entière d'insectes portant tous le gène introduit : en raison de leur propension à sauter d'un chromosome à un autre, ainsi qu'à produire de multiples copies de leur propre séquence, les transposons se répandent en échappant aux contraintes de l'hérédité mendélienne. Un seul transposon portant un gène utile, inséré dans le génome d'un animal cible, se comporte à la manière d'un agent libre qui



**4. ON FABRIQUE DES INSECTES TRANSGÉNIQUES** en introduisant, dans un œuf fécondé (1), un gène (en bleu) porté par un élément transposable, tel le transposon *Hermes* (en rouge). Le transposon et le gène à introduire sont placés dans la région polaire du cytoplasme (2), la partie de l'œuf où se formeront les cellules germinales de l'insecte, une fois sa maturation achevée. Après de nombreuses divisions de l'ADN de l'œuf (3), la majeure partie formera les noyaux des cellules constituant le corps de l'insecte. Cependant, deux noyaux, qui migrent vers le pôle, constitueront les cellules germinales de l'insecte (4) lorsqu'il aura atteint sa maturité (5). Si ces cellules portent le transgène, la descendance sera transgénique (6).

se propage dans tout le génome. Plus de la moitié de la progéniture hérite alors du transgène ; après quelques générations d'insectes seulement, donc après un temps relativement court, la majeure partie de la population exprime le nouveau caractère.

Ce type de dissémination de gène a été observé dans la nature : l'élément P lui-même est une adjonction récente au génome de *Drosophila melanogaster*, provenant probablement de *Drosophila willistoni*, il y a moins d'un siècle.

La technique de B. Beaty n'est pas une véritable transformation transgénique, car elle utilise des virus ayant un gène supplémentaire pour infecter un organisme individuel qui synthétisera ensuite le produit du gène inséré. La thérapie génique humaine, elle, utilise parfois des vecteurs dérivés de rétrovirus qui ne sont plus pathogènes, mais capables d'intégrer des gènes dans le génome d'un nouvel hôte. Ces vecteurs viraux dépouillés, nommés pseudorétrovirus pan-tropes, interagissent avec n'importe quelle cellule. Diverses équipes les ont utilisés pour créer des cellules transformées de moustiques en culture, ainsi que des poissons et des coquillages transgéniques.

La plupart des biologistes ont cherché à modifier le phénotype d'un insecte (l'expression extérieure de sa constitution génétique) en intégrant du matériel génétique étranger dans les chromosomes de l'insecte. À l'Université Yale, Frank Richards et ses collègues ont proposé de transformer plutôt les microbes – passifs locataires ou actifs colonisateurs – qu'hébergent les insectes. Les insectes porteurs de microbes modifiés par génie génétique sont nommés paratransgéniques, car leur génome reste inchangé.

F. Richards et son collègue Charles Beard ont produit des réduves (des punaises hématophages) paratransgéniques ne transmettant plus le

trypanosome responsable de la maladie de Chagas (laquelle affecte plus de 18 millions de Sud-Américains, provoquant des troubles cardio-vasculaires, gastro-intestinaux et neurologiques). Les deux biologistes ont isolé une bactérie hébergée par la réduve et l'ont modifiée génétiquement, afin qu'elle sécrète une protéine qui tue le trypanosome que l'insecte véhicule. Ils ont ensuite replacé la bactérie dans les insectes, qui ne servent alors plus d'hôtes au protozoaire responsable de la maladie. Les bactéries génétiquement modifiées se sont disséminées dans une population captive d'insectes, dont la capacité de véhiculer des maladies est supprimée.

## Des alliés de l'agriculture

Nombre d'insectes sont bénéfiques, voire indispensables à l'agriculture. Par exemple, les abeilles assurent la pollinisation des plantes. D'autres espèces participent au recyclage des nutriments et contribuent au maintien d'une bonne qualité de sol. Toutefois, une petite minorité d'espèces ravagent les récoltes.

En 1940, Edward Knippling, du ministère américain de l'Agriculture, et le Russe Aleksandr Serebrovsky ont indépendamment proposé une méthode génétique de lutte contre ce fléau : ils préconisaient d'inonder une population de ravageurs d'individus stériles de la même espèce, de sorte que la majorité des accouplements soient stériles. Aujourd'hui, on met en œuvre cette « technique de l'insecte stérile » en stérilisant un grand nombre d'insectes, souvent à l'aide de radiations ionisantes. Des lâchers répétés de ces organismes stériles anéantissent parfois toute une population de ravageurs (voir la figure 8).

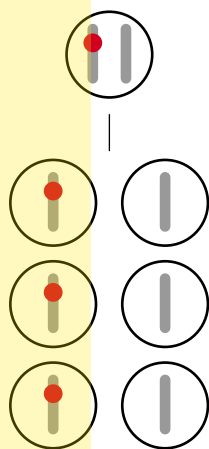
Dmitry Krasny, d'après Margaret Kidwell et José Ribeiro

Ainsi, la technique de l'insecte stérile protège une partie de l'agriculture de nombreux pays, où elle participe à l'éradication des insectes ravageurs en évitant l'emploi de pesticides.

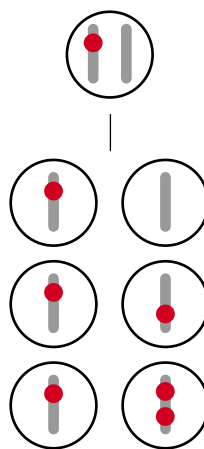
Dans les années 1970, la technique de l'insecte stérile a été à l'origine de l'éradication de la lucilie bouchère du Nouveau Monde, d'abord dans le Sud-Est des États-Unis, puis au Mexique. La lucilie bouchère pond, dans les plaies ouvertes du bétail, ses œufs, qui se développent en larves se nourrissant de la chair des animaux. Récemment, la technique a également été utilisée avec succès contre la mouche des fruits dans la région de Los Angeles.

La technique de l'insecte stérile utilise de la génétique classique : on doit obtenir la reproduction des insectes avant de

### PRODUCTION CLASSIQUE DE GAMÈTES



### PRODUCTION DE GAMÈTES AVEC DES TRANSPOSONS



**5. LA TRANSMISSION DE l'information génétique portée par les transposons n'est pas mendélienne.** Au cours de la production normale des gamètes (à gauche), un gène non associé à un transposon apparaît dans la moitié des gamètes et est transmis en moyenne à la moitié de la descendance. En revanche, les transposons (points rouges) se multiplient et migrent vers d'autres chromosomes (à droite). Un gène associé se retrouve dans plus de la moitié des gamètes et, donc, dans plus de la moitié des individus de la génération suivante.



USDA/Agricultural Research Service

**6. LES ASTICOTS DE LA MOUCHE DES FRUITS** (on en extrait un d'une papaye) détruisent de précieuses récoltes. La pulpe comestible de la papaye a été endommagée (à droite des graines noires) par les larves de l'insecte qui s'en nourrit.