

## Construction Doublesex

Le projet Target Malaria a pour vision un monde exempt de paludisme. À l'appui de cette vision, nous développons des moustiques modifiés qui pourront être lâchés dans une population cible en vue de réduire progressivement le nombre de moustiques capables de transmettre le paludisme. Cette nouvelle méthode viendrait compléter les outils existants de lutte contre le paludisme. Target Malaria adapte le concept d'impulsion génétique qui existe déjà dans la nature et cette technologie prometteuse constituera un moyen autonome et économique de contrôler la population de moustiques vecteurs du paludisme – à savoir de lutter contre le paludisme en luttant contre les moustiques vecteurs de la maladie.

La technologie développée par Target Malaria se focalise sur des modifications génétiques qui affectent la capacité de reproduction des moustiques, en ciblant les gènes jouant un rôle dans la fertilité, tel que le gène *doublesex (dsx)*. Le gène *dsx* est responsable de la détermination du sexe des moustiques, il fonctionne comme un interrupteur qui définit si les cellules du moustique deviendront mâles ou femelles. En agissant sur le gène *dsx*, cela permet d'interférer dans le développement sexuel des insectes adultes et leur reproduction.



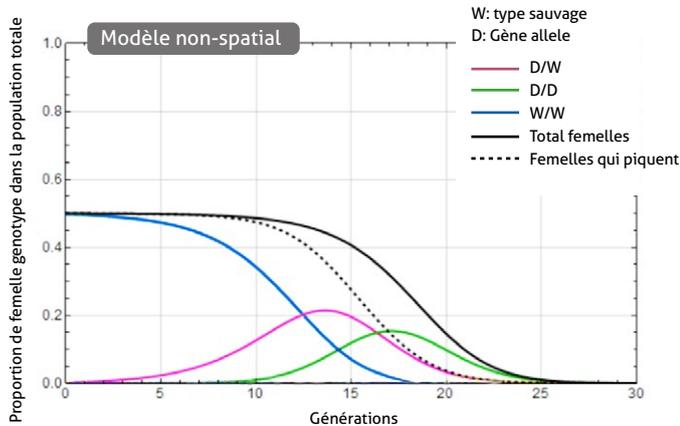
### L'impulsion génétique dans le locus *doublesex (dsx)*

L'impulsion génétique est un phénomène par lequel un certain élément pouvant être hérité biaise l'hérédité en sa faveur ; ainsi, le gène devient plus prévalent dans la population au fil des générations successives.

Comme notre objectif à long terme est de réduire le nombre de moustiques vecteurs du paludisme dans l'environnement, nous utilisons l'impulsion génétique pour entraver la possibilité de reproduction des moustiques. Nous utilisons des enzymes coupeurs d'ADN (ou nucléases) très spécifiques, tels que CRISPR/Cas, qui reconnaissent et coupent des séquences spécifiques d'ADN dans le génome du moustique. Nous programmons spécialement nos nucléases pour couper dans le gène *dsx* afin d'affecter la reproduction.

Ainsi, les moustiques modifiés qui héritent de l'impulsion génétique d'un de leurs parents resteront fertiles et pourront la transmettre à leur descendance de manière autonome. Au fur et à mesure que l'impulsion génétique augmente en fréquence dans la population cible, les moustiques auront de plus en plus de chances d'hériter la modification génétique des deux parents. Les femelles possédant deux copies de l'impulsion génétique seront stériles, et la population de moustiques diminuera.

**Hétérozygote transgénique première vague (magenta), suivi par homozygote transgénique seconde vague (vert), après lâcher transgène dans la population de type sauvage**



Modèle déterministe de petite cage, 1% transgène initial *dsx<sup>CRISPR</sup>* mâles. Estimation des paramètres par Kyrou *et al.*, 2018.

A. Beaghton, non publié.

## Moustiques *doublesex* Target Malaria

**Publication dans Nature Biotechnology, 2018 : "A CRISPR-Cas9 gene drive targeting *doublesex* causes complete population suppression in caged *Anopheles gambiae* mosquitoes" <sup>1</sup>**

Cet article démontre qu'en utilisant CRISPR-Cas9, l'impulsion génétique arrive à supprimer une population de moustiques *Anopheles gambiae* en cage, en ciblant une région du gène *dsx* exprimée uniquement chez les femelles, essentielle à la détermination du sexe. Lorsqu'un petit nombre de moustiques à impulsion génétique ont été introduits dans une cage de moustiques de type sauvage, la modification génétique s'est répandue dans la population, et en définitive dans 100 % des cas. Les mâles porteurs de l'impulsion génétique n'ont présenté aucune modification manifeste, et les femelles n'ayant qu'une copie du gène modifié n'ont apparemment pas non plus été affectées. Ce sont seulement les femelles nées avec deux copies de l'impulsion génétique qui sont nées complètement stériles (elles ne pondaient pas d'œufs et ne piquaient pas) et les effectifs de la population ont chuté.

Nous avons pu montrer pour la première fois l'élimination complète d'une population de moustiques *Anopheles gambiae* en cage, qui s'est étalée sur 7-11 générations (approx. 21-33 semaines) sans aucun signe d'émergence d'une résistance immédiate. C'est également la première fois que les scientifiques ont pu utiliser une modification génétique pour stopper la capacité de reproduction d'organismes complexes en laboratoire, en utilisant l'impulsion génétique pour éliminer la population. Suite à la publication de cet article, les moustiques à impulsion génétique ont été expédiés au Polo of Genomics, Genetics and Biology (PoloGGB) en Italie, où ils continuent d'être étudiés en grandes cages à l'intérieur d'un laboratoire en milieu confiné, dans des conditions environnementales qui sont plus proches de leur milieu écologique naturel.

**Publication dans Nature Biotechnology, 2020 : "A Male-biased Sex-Distorter Gene Drive for the Human Malaria Vector *Anopheles gambiae*" <sup>2</sup>**

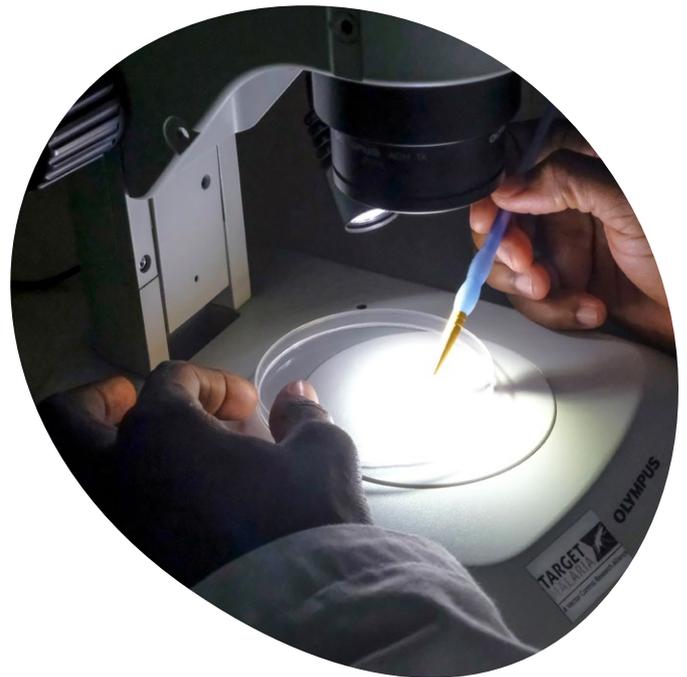
Cette étude décrit le développement d'un moustique à altération sexuelle, qui peut se répandre de manière autonome dans une population de moustiques *Anopheles*, grâce à une impulsion génétique ciblant le gène *dsx*. En se disséminant, l'altération sexuelle convertit la population qui devient à prédominance mâle tandis que le composant à impulsion génétique réduit la proportion de femelles fonctionnelles et fertiles, ce qui finit par faire s'effondrer la population. La manipulation du ratio mâle-femelle en faveur d'une population à biais mâle devrait être extrêmement efficace pour lutter contre la transmission du paludisme car les femelles sont les seules à piquer et à transmettre la maladie.

Les conclusions à ce jour représentent une avancée significative dans les efforts de développement d'une impulsion génétique fonctionnelle à biais mâle pour lutter contre les moustiques vecteurs du paludisme.

## Un candidat prometteur pour contribuer à la lutte contre les moustiques vecteurs du paludisme en Afrique

La technologie à impulsion génétique est une approche innovante pour relever le défi de la lutte anti-vectorielle, qui permettra potentiellement d'ajouter de nouveaux outils et interventions pour lutter contre le paludisme. Les travaux de recherche doivent se poursuivre pour voir comment des conditions environnementales plus complexes affectent la technologie. Nous prévoyons d'évaluer les dernières souches de moustiques de manière approfondie, en grande cage, dans notre institut partenaire Polo GGB en Italie, où nous pouvons simuler des environnements tropicaux et observer les comportements plus complexes, tels que les essaims de reproduction.

Aucune étude de terrain n'a encore été prévue pour les moustiques à impulsion génétique. Il nous faudra encore cinq à dix ans de travail avant d'être prêts à demander aux autorités réglementaires d'envisager l'utilisation en milieu confiné. D'autres études en laboratoire seront nécessaires pour mieux caractériser les moustiques à impulsion génétique, leur efficacité et leur sécurité, avant de transférer la technologie sur le terrain. Des études d'impact environnemental seront réalisées, en respectant les exigences de la législation nationale. Nous poursuivrons nos activités majeures d'engagement des communautés et d'autres parties prenantes à tous les niveaux afin d'obtenir leur soutien et leur accord pour faire progresser cette technologie de lutte vectorielle contre le paludisme.



- 1 Kyrou, K., Hammond, A., Galizi, R. *et al.* A CRISPR–Cas9 gene drive targeting *doublesex* causes complete population suppression in caged *Anopheles gambiae* mosquitoes. *Nat Biotechnol* **36**, 1062–1066 (2018). <https://doi.org/10.1038/nbt.4245>
- 2 Simoni, A., Hammond, A.M., Beaghton, A.K. *et al.* A male-biased sex-distorter gene drive for the human malaria vector *Anopheles gambiae*. *Nat Biotechnol* **38**, 1054–1060 (2020). <https://doi.org/10.1038/s41587-020-0508-1>