

Résistance à l'impulsion génétique

De nombreuses méthodes de lutte antipaludique ont du mal à maintenir leur efficacité, du fait d'une résistance aux insecticides et aux médicaments et de la hausse du coût des interventions. La lutte contre le moustique, vecteur du paludisme, reste au premier plan des efforts d'élimination de la maladie.

Target Malaria œuvre pour développer des technologies génétiques innovantes, s'inscrivant dans une stratégie dite d'impulsion génétique, afin de réduire la population de moustiques vecteurs du paludisme et, de ce fait, réduire la transmission du paludisme.

L'impulsion génétique fait intervenir un mécanisme génétique qui a été conçu pour se répandre dans une population tout en faisant diminuer la population de moustiques et la transmission du paludisme. L'impulsion génétique est une stratégie particulièrement attractive : elle pourrait être déployée dans des sites éloignés ; elle peut fonctionner parallèlement au système de santé sans en être dépendante ; elle est potentiellement économique ; elle peut être utilisée de façon complémentaire aux autres méthodes de lutte antivectorielle avec un impact potentiel à long terme et durable.



L'approche d'impulsion génétique de Target Malaria exploite un transgène codant la nucléase CRISPR/Cas (un enzyme coupeur d'ADN). Dans nos moustiques modifiés, l'enzyme CRISPR/Cas agit simultanément à deux niveaux :

- Il coupe et perturbe les gènes spécifiques du moustique jouant un rôle dans la fertilité, de sorte que les femelles qui le possèdent ne peuvent pas se reproduire normalement.
- Il agit de sorte que les copies de son propre transgène sont coupées et collées dans des chromosomes partenaires sur le même site que le gène de fertilité femelle.

Ainsi, le transgène CRISPR/Cas et l'infertilité des femelles se répandent dans la population de moustiques bien plus rapidement que par le biais de phénomènes d'hérédité standard, ce qui finit par entraîner une réduction globale du nombre de moustiques vecteurs du paludisme.

Potentiel de résistance

On a vu dans le cas des antibiotiques utilisées pour traiter les infections bactériennes qu'une potentielle résistance pouvait se développer chez les bactéries ; les moustiques eux aussi

peuvent développer une résistance à n'importe quelle méthode de lutte antivectorielle, comme l'utilisation d'insecticides, par exemple. De la même manière, il existe un risque d'émergence d'une forme de résistance à l'impulsion génétique. Quelle que soit la cible de la résistance, elle se produit pour une même raison - la sélection naturelle.

Il convient de noter que les mêmes mécanismes n'interviennent pas dans la résistance à l'impulsion génétique et la résistance aux insecticides. La modification génétique introduite dans les moustiques à impulsion génétique ne devrait pas affecter la résistance aux insecticides et, de même, la résistance aux insecticides n'interfère pas dans le fonctionnement de l'impulsion génétique. Les souches de moustiques développées par Target Malaria sont vérifiées pour s'assurer que la modification n'a aucun impact sur la résistance aux insecticides.

La résistance à l'impulsion génétique surviendrait probablement par le biais de deux mécanismes :

La résistance pourrait survenir du fait de l'action du transgène CRISPR/Cas sur lequel s'appuie le système d'impulsion génétique. Le mécanisme central de l'impulsion génétique fait intervenir la nucléase CRISPR/Cas, qui reconnaît et coupe des séquences spécifiques d'ADN dans le génome du moustique. La cellule utilise le transgène CRISPR/Cas comme modèle pour réparer la coupure, en le copiant d'un chromosome à l'autre. Il arrive parfois que les cellules réparent l'incision sans copier le transgène CRISPR/Cas, ce qui induit une nouvelle séquence que la nucléase CRISPR/Cas risque de ne plus reconnaître, en interrompant ainsi le mécanisme d'impulsion génétique.

La résistance pourrait survenir du fait d'une variation génétique naturelle dans la population de moustiques de type sauvage, à la séquence ciblée par CRISPR/Cas, ce qui empêcherait l'impulsion génétique de bien fonctionner. Les moustiques ayant des séquences de ce variant pourraient être résistants à l'impulsion génétique et - puisque leur fertilité serait moins affectée que les moustiques n'ayant pas ce variant - ils seraient progressivement favorisés par la sélection naturelle. En conséquence, si ces variants existaient, la distribution de l'impulsion

génétique serait ralentie, voire entièrement stoppée. Des études récentes¹ ont analysé le génome de 1142 moustiques *Anopheles* de type sauvage venant de toute l'Afrique. Elles ont révélé une extrême diversité génétique sur de nombreux gènes du moustique, ce qui pourrait limiter le nombre de sites génomiques qui seraient des cibles potentielles pour l'impulsion génétique. Toutefois, ces analyses ont également révélé le fait qu'il existe certains gènes montrant peu de variation génétique naturelle, ce qui aidera les chercheurs à développer des impulsions génétiques moins susceptibles de développer une résistance.

Le séquençage de l'ADN du site cible chez un grand nombre de moustiques permet de détecter et de surveiller la résistance à l'impulsion génétique. Des laboratoires spécialisés font ce travail régulièrement. Les travaux récents² réalisés dans le laboratoire du professeur Andrea Crisanti (Imperial College London) ont confirmé que la résistance du site cible à un mécanisme d'impulsion génétique évoluait sur plusieurs générations chez les populations de moustiques en cage : une impulsion génétique visant à affecter la fertilité des moustiques a été bloquée par des mutations sur le site cible, qui ont empêché CRISPR/Cas de couper l'ADN à cet endroit, tout en rendant les moustiques fertiles. D'autres travaux³ sur les mouches à fruit *Drosophila* ont permis d'aboutir à la même conclusion.

Stratégies face à la résistance

En comprenant la nature des moustiques résistants et la vitesse à laquelle la résistance peut intervenir, les chercheurs étudiant l'impulsion génétique pourront trouver des moyens de prédire et de gérer la résistance pour de futures applications de l'impulsion génétique. Target Malaria a réfléchi à plusieurs stratégies pour retarder l'évolution d'une résistance :

- Cibler de multiples séquences dans le même gène de fertilité
- Cibler de multiples gènes de fertilité
- Sélectionner des gènes cibles présentant peu de variation, ou qui ne peuvent tolérer aucun changement dans leurs séquences sans préjudice pour le moustique

- Développer des impulsions génétiques plus efficaces, capables de faire contrepoids

Toutes ces approches sont complémentaires et, une fois combinées, réduisent considérablement la probabilité de survenue d'une résistance. Des expérimentations récentes en laboratoire⁴ ont montré qu'en combinant de telles approches, il serait possible d'éliminer complètement les populations de moustiques en cage sans détecter aucun signe de résistance, puisque l'éradication est également l'antidote à la résistance.

Efficacité de l'impulsion génétique

Un certain niveau de résistance aux impulsions génétiques pourrait être inévitable. Les chercheurs étudient des manières de minimiser de tels effets sur une période assez longue pour permettre à l'impulsion génétique de se répandre dans une population et d'avoir un impact sur la population de moustiques vecteurs du paludisme et transmettant la maladie, avant que la résistance n'entre en jeu pour stopper l'impulsion génétique.

Une fois que nous aurons développé notre première impulsion génétique efficace, nous anticipons qu'il serait beaucoup plus rapide de produire d'autres impulsions génétiques

adaptées au gène variant, qui seraient nécessaires pour surmonter la résistance sur le terrain et qu'elles coûteraient moins cher que la version originale.

Target Malaria communique avec des experts de la lutte antipaludique afin de déterminer combien de temps une intervention à base d'impulsion génétique devrait durer pour être efficace et venir s'ajouter à la panoplie d'outils utiles pour la lutte antipaludique. Il existe une opportunité potentielle d'obtenir des niveaux d'efficacité satisfaisant pendant de nombreuses années avant que ne survienne une résistance. Pendant cette période et avant que la résistance n'intervienne, des options pourraient être développées pour de nouvelles impulsions génétiques et d'autres outils de lutte qui constitueraient la prochaine génération de lutte antivectorielle.

- 1 The Anopheles gambiae 1000 Genomes Consortium (2017): Ag1000G phase 2 AR1 data release. MalariaGEN. <http://www.malariagen.net/data/ag1000g-phase2-ar1>
- 2 Hammond M, Kyros K, Bruttini M, North A, Galizi R, Karlsson X, Carpi F, D'Aurizio R, Crisanti A, Nolan T. (2017) The creation and selection of mutations resistant to a gene drive over multiple generations in the malaria mosquito. bioRxiv doi: <https://doi.org/10.1101/149005>
- 3 Champer J, Reeves R, Oh SY, Liu C, Liu J, Clark AG, et al. (2017) Novel CRISPR/Cas9 gene drive constructs reveal insights into mechanisms of resistance allele formation and drive efficiency in genetically diverse populations. PLoS Genet 13(7): e1006796. <https://doi.org/10.1371/journal.pgen.1006796>
- 4 DOI: <https://doi.org/10.1038/nbt.4245>

