

Note d'information

Mâle biaisé : souche de fond et site d'insertion transgénique

Contexte

Dans le cadre de notre [parcours de développement](#) en plusieurs phases, Target Malaria a conclu ses travaux en Afrique sur la souche mâle stérile en 2021 et concentre maintenant ses efforts sur la souche de moustique « [mâle biaisé](#) » [1]. Actuellement, cette souche est évaluée en vertu d'un permis d'utilisation en milieu confiné par notre équipe de l'Institut de recherche en sciences de la santé (IRSS) au Burkina Faso. Nous prévoyons également de futures études sur cette souche à l'Institut de recherche virologique de l'Ouganda (UVRI) en Ouganda. Ces recherches viennent s'ajouter au travail déjà effectué par nos équipes de Londres (Imperial College), d'Italie (PoloGGB) et des États-Unis (Centers for Disease Control Foundation CDCF).

Pour plus d'informations : Fiche d'information sur le [moustique mâle biaisé](#)

Dans le cadre de nos activités d'engagement, les parties prenantes ont indiqué qu'elles souhaitent comprendre plus en détail la souche « mâle biaisé », y compris le fond génétique et le site d'insertion de la modification génétique. Cette note d'information vise à fournir des informations techniques plus détaillées concernant ces sujets.

Souches de moustiques en Afrique

Il existe plus de 3 500 espèces de moustiques dans le monde, dont 837 en Afrique. Le paludisme est transmis par la piqûre des moustiques femelles *Anopheles*. Plus de 500 espèces d'*anophèles* ont été décrites dans le monde et plus de 30 sont considérées comme un problème de santé publique. En Afrique subsaharienne, seules quatre espèces sont responsables de la majorité de la transmission du paludisme ; *An. gambiae*, *An. coluzzii* et *An. arabiensis*, qui sont toutes trois étroitement liées, et *An. funestus*.

Espèce de référence de la souche mâle biaisée

La lignée fondatrice de la souche mâle biaisée a été développée par Target Malaria au sein de la souche de moustique appelée « G3 ». Il s'agit d'une souche de référence adaptée en laboratoire qui a été collectée à l'origine sur le terrain en 1975 et **identifiée comme étant de type *An. gambiae*** et appartenant au complexe d'espèces *An. gambiae sensu lato (s.l.)*.¹ Il s'agit d'une souche couramment utilisée par de nombreux

¹ <https://www.beiresources.org/Catalog/BEIVectors/MRA-112.aspx>

laboratoires qui étudient la biologie de l'*anophèle* et la recherche sur le paludisme, de sorte qu'il existe de nombreuses informations disponibles sur cette souche.

Lorsque la souche de moustique G3 a été établie en laboratoire en 1975, *An. gambiae* était reconnu comme ne formant qu'une seule espèce. Depuis lors, une analyse génétique approfondie de spécimens « frais » d'*An. gambiae* capturés à l'état sauvage a conduit à sa reclassification en 2013 en deux espèces distinctes² : [2]

- *An. gambiae sensu stricto* (s.s.)
- *An. coluzzii* [1]

Les deux espèces *An. coluzzii* et *An. gambiae* s.s. sont extrêmement proches et font toutes deux partie du complexe d'espèces *An. gambiae* s.l. (qui contient au moins neuf espèces sœurs). En raison de la relation évolutive étroite entre *An. gambiae* s.s. et *An. coluzzii*, on trouve encore couramment des **hybrides interspécifiques dans la nature**, bien qu'à de basses fréquences [2-5]. Le phénomène de « **limites poreuses entre les espèces** » est bien établi depuis de nombreuses années dans le complexe d'espèces *An. gambiae* s.l., ainsi que parmi d'autres insectes [6,7].

Pour générer une souche génétiquement modifiée avec un fond génétique similaire à la population locale de moustiques, la souche mâle biaisée a été rétrocroisée à plusieurs reprises en laboratoire avec une colonie de type sauvage (WT) dérivée de populations locales de moustiques *anophèles* sur le terrain, dans le cadre d'un processus connu sous le nom **d'introgession** :

- Dans le cas du Burkina Faso, il s'agissait d'une population locale d'*An. Coluzzii*. [8]
- Dans le cas de l'Ouganda, il s'agissait d'une population locale d'*An. gambiae*.

Ces colonies locales de type sauvage élevées en laboratoire sont également périodiquement rafraîchies avec des larves de moustiques recueillies sur le terrain pour veiller à ce que le fond génétique reste proche de celui des moustiques trouvés dans l'environnement naturel local.

Emplacement du transgène mâle biaisé

Le processus de modification génétique des moustiques *An. gambiae* commence par l'injection d'ADN plasmidique contenant le transgène dans des embryons de la souche de laboratoire G3. Les adultes issus de ces injections sont accouplés à des moustiques G3 de type sauvage. Les larves produites sont passées au crible pour vérifier qu'elles sont porteuses du marqueur fluorescent qui fait partie du transgène à l'aide d'un microscope à fluorescence ; celles qui sont fluorescentes sont génétiquement modifiées.

Dans le cas de la souche mâle biaisée, le transgène se trouve sur le **chromosome 2R 19D (Figure 1)**. L'emplacement a été déterminé en utilisant une combinaison d'**analyse de séquence d'ADN** et d'**hybridation *in situ*** en laboratoire.

Le transgène mâle biaisé sur le chromosome 2R 19D est situé dans une région centromérique mal annotée. En général, les données du génome de référence consistent en une combinaison de séquences d'ADN assorties d'annotations, qui comprennent des informations sur ces séquences, telles que l'emplacement des gènes, s'ils codent pour des protéines, régulent des processus génétiques ou n'ont aucune fonction connue. Les séquences d'ADN répétitives et non annotées posent un défi en termes de caractérisation des génomes. [9]

² [tps://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/26131476/](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/26131476/)

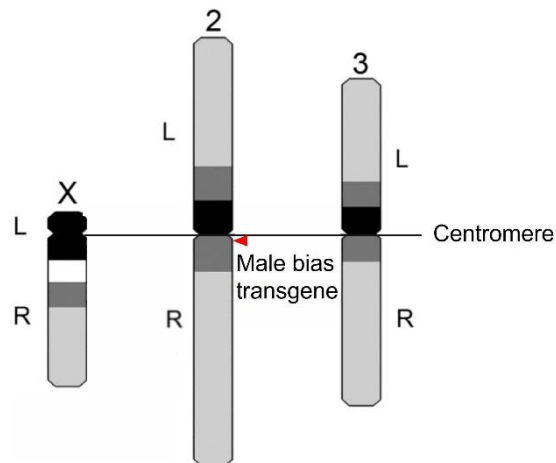


Figure 1 : Aperçu schématique des chromosomes X, 2 et 3 d'*An. gambiae s.s.* et d'*An. coluzzii* adapté de Sharma *et coll.*, 2020 [10]. Le transgène est situé sur le bras droit (R) du chromosome 2, représenté par un triangle rouge. Les différentes nuances sombres et la nuance blanche représentent des zones du chromosome qui sont densément compactées et plus difficiles à séquencer. Le centromère relie le bras gauche (L) et le bras droit (R) des chromosomes.

Les évaluations initiales de la souche transgénique mâle biaisée ainsi que de nombreuses autres souches étaient basées sur des données préliminaires utilisant une technique moléculaire commune, connue sous le nom de PCR inverse, qui caractérise l'ADN de chaque côté de l'insert génétique. Si l'ADN flanquant l'insert est annoté dans le génome, cela indique où le transgène s'est intégré. Lorsque les études de laboratoire sur les mâles biaisés ont été publiées en 2014, cet ensemble de données limité suggérait que le transgène se trouvait à l'emplacement chromosomique 3R 36D dans le génome [1]. Conscients de la nécessité de recherches supplémentaires, les chercheurs de Target Malaria ont continué à étudier la localisation du transgène en utilisant un éventail élargi de méthodes moléculaires et cytologiques différentes, telles que le séquençage du génome entier, l'analyse Southern et l'hybridation *in situ* en fluorescence (FISH) des chromosomes polytènes [9].

Combinées à des séquences génomiques de référence améliorées d'*Anopheles* disponibles grâce aux travaux du consortium Ag1000G [11] qui étudie les génomes d'*anophèles*, les recherches supplémentaires menées par l'équipe de Target Malaria à Londres ont identifié l'emplacement spécifique du transgène dans une zone hautement répétitive du génome d'*anophèles* sur le chromosome 2R 19D [9]. Cela signifie que la séquence d'ADN du moustique entourant le transgène peut être trouvée à de nombreux endroits du génome, c'est pourquoi **l'observation initiale de son emplacement a été réaffectée, sur la base d'analyses plus détaillées et plus précises.**

Ces développements sont positifs et représentent un progrès scientifique. Ces résultats ultérieurs représentent le résultat d'enquêtes scientifiques plus approfondies et sont un exemple classique du processus scientifique en action, qui passe par la mise à jour et l'affinage continus des interprétations de la réalité sur la base des données et des preuves les plus récentes. Les chercheurs de Target Malaria ont publié ces résultats, en les soumettant à un comité de lecture pour examen afin de garantir la transparence du processus de publication [9].

Conclusion

Il est important de noter que les nouvelles informations sur la localisation du transgène mâle biaisé ne

modifient pas l'évaluation des risques. L'activité du transgène et son effet inducteur mâle biaisé sont inchangés. Le transgène est stable et est transmis de manière mendélienne à 50 % de sa progéniture [12]. Par conséquent, les informations nouvellement obtenues sur la localisation du transgène n'ont pas modifié le profil de risque de cette souche transgénique sur le terrain [9, 12, 13].

Bibliographie

1. Galizi R, Doyle LA, Menichelli M, Bernardini F, Deredec A, Burt A, Stoddard BL, Windbichler N, Crisanti A : A synthetic sex ratio distortion system for the control of the human malaria mosquito. [Un système synthétique de distorsion du rapport des sexes pour le contrôle du moustique responsable du paludisme humain.] *Nat Commun* 2014, 5:3977
2. Coetzee M, Hunt RH, Wilkerson R, Torre AD, Coulibaly MB, Besansky NJ : *Anopheles coluzzii* and *Anopheles amharicus*, new members of the *Anopheles gambiae* complex. [*Anopheles coluzzii* et *Anopheles amharicus*, nouveaux membres du complexe *Anopheles gambiae*.] *Zootaxa* 2013, 3619:246-274.
3. Livre blanc : Chromosomal evidence for natural interspecific hybridization by mosquitoes of the *Anopheles gambiae* complex. [Preuves chromosomiques d'une hybridation interspécifique naturelle parmi les moustiques du complexe *Anopheles gambiae*.] *Nature* 1971, 231:184-185.
4. Livre blanc : *Anopheles gambiae* complex and disease transmission in Africa. [*Anopheles gambiae* et la transmission de maladies en Afrique.] *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene* 1974, 68:278-298.
5. Costantini C, Ayala D, Guelbeogo WM, Pombi M, Some CY, Bassole IH, Ose K, Fotsing JM, Sagnon N, Fontenille D, et coll. : Living at the edge : biogeographic patterns of habitat segregation conform to speciation by niche expansion in *Anopheles gambiae*. [Vivre en marge : motifs biogéographiques de ségrégation des habitats conformes à la spéciation par expansion de niche chez *Anopheles gambiae*.] *BMC Ecol* 2009, 9:16.
6. Connolly JB, Romeis J, Devos Y, Glandorf DCM, Turner G, Coulibaly MB : Gene drive in species complexes: defining target organisms. [Motivation génétique dans les complexes d'espèces : définition des organismes cibles.] *Trends Biotechnol* 2022.
7. Besansky NJ, Krzywinski J, Lehmann T, Simard F, Kern M, Mukabayire O, Fontenille D, Toure Y, Sagnon N : Semipermeable species boundaries between *Anopheles gambiae* and *Anopheles arabiensis* : evidence from multilocus DNA sequence variation. [Limites semi-perméables entre les espèces d'*Anopheles gambiae* et d'*Anopheles arabiensis* : preuve d'une variation de séquence d'ADN multilocus.] *Proc Natl Acad Sci U S A* 2003, 100:10818-10823.
8. Pollegioni P, Persampieri T, Minuz RL, Bucci A, Trusso A, Martino SD, Leo C, Bruttini M, Ciolfi M, Waldvogel AM, Tripet F, Simoni A, Crisanti A, Müller R. Introgression of a synthetic sex ratio distortion transgen into different genetic background of *Anopheles coluzzii*. [Introgression d'un transgène synthétique de distorsion du rapport des sexes dans différents fonds génétiques d'*Anopheles coluzzii*.] *Insect Mol Biol*. 2023 Feb;32(1):56-68. doi: 10.1111/imb.12813. Epub 31 oct 2022. PMID : 36251429 ; PMCID : PMC10092091.
9. Vitale M, Leo C, Courty T, Kranjc N, Connolly JB, Morselli G, Bamikole C, Haghighat-Khah RE, Bernardini F, Fuchs S : Comprehensive characterization of a transgene insertion in a highly repetitive, centromeric region of *Anopheles* mosquitoes. [Caractérisation complète d'une insertion transgénique

dans une région centromérique hautement répétitive de moustiques *anophèles*.] *Pathog Glob Health* 2022;1-11.

10. Sharma A, Kinney NA, Timoshevskiy VA, Sharakhova MV, Sharakhov IV. Structural Variation of the X Chromosome Heterochromatin in the *Anopheles gambiae* Complex. [Variation structurelle de l'hétérochromatine du chromosome X dans le complexe *Anopheles gambiae*.] *Genes*. 2020; 11(3):327. <https://doi.org/10.3390/genes11030327>
 11. Anopheles gambiae 1000 Genomes Consortium. Genetic diversity of the African malaria vector *Anopheles gambiae*. [Diversité génétique du vecteur africain du paludisme *Anopheles gambiae*.] *Nature*. 2017 Dec 7;552(7683):96-100. doi: 10.1038/nature24995. Epub 2017 Nov 29. PMID : 29186111 ; PMCID : PMC6026373
 12. Connolly JB, Mumford JD, Fuchs S, Turner G, Beech C, North AR, Burt A : Systematic identification of plausible pathways to potential harm via problem formulation for investigational releases of a population suppression gene drive to control the human malaria vector *Anopheles gambiae* in West Africa. [Identification systématique de trajectoires plausibles vers un préjudice potentiel par la formulation d'un problème aux fins de lâchers d'enquête d'une impulsion génétique entraînant la suppression d'une population pour contrôler le vecteur du paludisme *Anopheles gambiae* pour l'homme en Afrique de l'Ouest.] *Malar J* 2021, 20.
 13. Connolly JB, Mumford JD, Glandorf DCM, Hartley S, Lewis OT, Evans SW, Turner G, Beech C, Sykes N, Coulibaly MB, et coll. : Recommendations for environmental risk assessment of gene drive applications for malaria vector control. [Recommandations pour l'évaluation des risques environnementaux des applications d'impulsion génétique pour la lutte antivectorielle contre le paludisme.] *Malar J* 2022, 21:152.
-