

**Résolution sur les préoccupations des consommateurs
concernant les nouvelles techniques du génie génétique**

Introduction

Cette résolution s'appuie sur la résolution de février 2000 du TACD : Préoccupations des consommateurs concernant la biotechnologie et les organismes génétiquement modifiés (OGM), compte tenu des incidences des nouvelles techniques du génie génétique sur les recommandations existantes du TACD dans ce domaine.

Le TACD considère que les nouvelles techniques du génie génétique vont engendrer des organismes génétiquement modifiés (OGM) devant être soumis à une évaluation des risques et à un étiquetage, conformément à la résolution TACD de février 2000 mentionnée ci-dessus, et aux résolutions plus récentes concernant le commerce international de produits issus de la biotechnologie moderne.¹ Les dangers pour la santé humaine, le bien-être des animaux et l'environnement doivent être pondérés avant la mise sur le marché ou la dissémination dans l'environnement de dérivés de ces nouvelles techniques. Les produits doivent également être étiquetés conformément aux droits des consommateurs de savoir et de choisir ce qu'ils achètent et ce qu'ils mangent.

Recommandations

Le TACD exhorte les gouvernements de l'UE et des États-Unis à :

- Réglementer les produits issus des nouvelles techniques du génie génétique de la même façon que les organismes génétiquement modifiés (OGM) ;
- Renforcer les systèmes de réglementation afin d'inclure une évaluation obligatoire des effets sur la santé humaine avant la mise sur le marché, qui examinera tous les aliments produits en utilisant de nouvelles techniques du génie génétique pour déceler les dangers potentiels ;
- Développer des méthodes solides d'évaluation de la sécurité environnementale avant la mise sur le marché et de surveillance une fois sur le marché ;
- Tenir compte pleinement du bien-être des animaux modifiés à l'aide de nouvelles techniques du génie génétique avant leur approbation ;
- Adopter des règles d'étiquetage obligatoire pour tous les aliments produits en utilisant de nouvelles techniques du génie génétique ;
- Adopter et appliquer des règles strictes pour la responsabilité et l'assurance obligatoire des entreprises qui souhaitent introduire dans l'environnement des organismes modifiés en utilisant de nouvelles techniques du génie génétique ;
- Établir et maintenir des systèmes pour garantir que des ressources originelles de denrées non génétiquement modifiées restent disponibles.

¹ Résolution sur le chapitre proposé concernant les mesures sanitaires et phytosanitaires dans le cadre du Partenariat transatlantique de commerce et d'investissement (TTIP). TACD Doc. n. : Food 37/16. 21 janvier 2016. http://tacd.org/wp-content/uploads/2015/01/TACD-Resolution-TTIP-SPS_-GREEN_rev0216.pdf ; Résolution sur le chapitre proposé concernant les mesures sanitaires et phytosanitaires dans le cadre du Partenariat transatlantique de commerce et d'investissement (TTIP). (mise à jour). TACD Doc. n. : Food 38/16. 5 juillet 2016. http://tacd.org/wp-content/uploads/2015/01/TACD-Resolution-TTIP-SPS_-UPDATE_July2016.pdf

Contexte

Nouvelles techniques du génie génétique

À l'heure actuelle, les organismes génétiquement modifiés (OGM) sont principalement des plantes cultivées comme cultures commerciales destinées à la consommation humaine, à la consommation animale, à l'industrie textile (coton) et aux biocarburants, bien qu'un saumon génétiquement modifié ait été approuvé aux États-Unis et au Canada.

Les méthodes d'ingénierie génétique permettent de modifier le matériel génétique des organismes en ayant recours à des techniques de laboratoire artificielles. Les gènes, constitués de la substance chimique connue sous le nom d'ADN, donnent l'ordre de fabriquer des molécules appelées protéines ou de produire des ARN non codants. La modification des gènes d'une plante ou d'un animal peut influencer sur ses propriétés ou ses attributs, par exemple, sa réaction aux maladies, aux pesticides ou à la pénurie d'eau.

Il existe actuellement dans le commerce deux méthodes prédominantes pour modifier génétiquement les plantes : soit l'ADN modifié est transféré en utilisant une bactérie ayant la capacité de contaminer les plantes et d'intégrer l'ADN dans leur génome ; soit on utilise des microparticules d'or, de tungstène ou d'argent enrobées du nouvel ADN, projetées à grande vitesse dans les cellules des plantes. Plus récemment, de nombreuses méthodes innovantes ont été élaborées pour modifier l'ADN des plantes et des animaux et leur conférer de nouvelles caractéristiques (voir Annexe). La plupart de ces nouvelles techniques du génie génétique tombent sous l'appellation « édition génomique ». L'édition génomique n'a pas vocation à être uniquement utilisée pour les cultures, elle peut aussi l'être pour les arbres, les animaux de ferme, les poissons et les insectes, avec une large gamme de nouvelles propriétés.

Les nouvelles techniques du génie génétique produisent toujours des OGM

Bien que les nouvelles méthodes de laboratoire utilisées soient différentes, toutes ces techniques innovantes du génie génétique produisent toujours des organismes génétiquement modifiés (OGM). Ces organismes disposent d'un matériel génétique qui a été modifié en laboratoire pour leur conférer de nouvelles propriétés ou attributs. La Commission du Codex Alimentarius donne une définition de la « biotechnologie moderne » qui permet de bien comprendre comment réglementer les OGM issus de ces nouvelles techniques.

La Commission du Codex Alimentarius est l'organisation des Nations unies qui établit les normes alimentaires. Elle est gérée conjointement par l'Organisation mondiale de la santé (OMS) et l'Organisation des Nations unies pour l'alimentation et l'agriculture (FAO). Son objectif principal est de protéger la santé des consommateurs et de promouvoir des pratiques équitables dans le commerce alimentaire international. Les normes, directives et codes d'usages du Codex Alimentarius sont reconnus par l'Organisation mondiale du commerce (OMC) comme normes et directives pour la résolution des litiges relatifs à la sécurité sanitaire des aliments et à la protection des consommateurs. Les principes du Codex stipulent qu'une évaluation des risques avant mise sur le marché devrait être entreprise pour tous les aliments dérivés de la biotechnologie moderne.² Les principes du Codex fournissent la définition suivante de la biotechnologie moderne :

« *Biotechnologie moderne* » s'entend de l'application :

- i) de techniques *in vitro* aux acides nucléiques, y compris la recombinaison de l'acide désoxyribonucléique (ADN) et l'introduction directe d'acides nucléiques dans des cellules ou organites, ou
- ii) de la fusion cellulaire d'organismes n'appartenant pas à la même famille taxonomique, qui surmontent les barrières naturelles de la physiologie de la reproduction ou de la recombinaison et qui ne sont pas des techniques utilisées pour la reproduction et la sélection de type classique.

² Codex Alimentarius (2011) Principes pour l'analyse des risques liés aux aliments dérivés des biotechnologies modernes.

Le terme « techniques *in vitro* [appliquées] aux acides nucléiques » désigne toute technique de laboratoire qui modifie le matériel génétique d'un organisme (qui consiste d'acides nucléiques, par exemple l'ADN et l'ARN). *In vitro* (lit. « dans le verre » en latin) se réfère à la technique d'exécution d'une procédure donnée dans un environnement contrôlé à l'extérieur d'un organisme vivant. Les nouvelles techniques du génie génétique, par exemple les technologies ARNi ou d'édition génétique/génomique impliquent invariablement des « techniques *in vitro* [appliquées] aux acides nucléiques », et doivent par conséquent être considérées comme issues de la « biotechnologie moderne ». Comme les normes et directives du Codex sont référencées par l'OMC, les pays pourraient exiger des évaluations de sécurité et l'étiquetage des aliments dérivés de ces nouvelles techniques du génie génétique et ces évaluations ne seraient pas automatiquement considérées comme des barrières commerciales non tarifaires ; elles seraient considérées commercialement licites.

Le Codex compte actuellement 188 signataires, notamment les États-Unis et l'Union européenne (UE), qui ont adopté ces normes.

Droit européen et OGM

Au sein de l'UE, les OGM issus des nouvelles techniques du génie génétique relèvent de la définition des OGM mentionnée dans la législation en vigueur et devraient donc continuer à être réglementés en vertu de ces lois. Les textes fondamentaux régissant les OGM dans l'UE sont la directive 2001/18, le règlement 1829/2003 et le règlement 1830/2003. Les modalités précisant si un organisme est considéré comme OGM ou non sont fixées par la directive 2001/18, qui définit un « *organisme génétiquement modifié* » sur la base du processus à travers lequel il a été créé. Selon la loi, il s'agit d'un « *organisme, à l'exception des êtres humains, dont le matériel génétique a été modifié d'une manière qui ne s'effectue pas naturellement par multiplication et/ou par recombinaison naturelle* » (article 2.2).

Cette définition est juridiquement et scientifiquement bien fondée dans la mesure où le processus du génie génétique conduit invariablement à des résultats tant intentionnels qu'inattendus, y compris des changements imprévisibles de l'ADN et de son fonctionnement, ce qui peut compromettre la sécurité sanitaire et environnementale du produit final.

La directive européenne énumère un certain nombre de techniques de modification génétique qui relèvent de la définition de l'UE. Toutefois, cette liste est explicitement ouverte (« entre autres ») afin que la directive puisse être appliquée aux évolutions techniques du génie génétique. Un exemple de processus de modification génétique est l'introduction de matériel génétique (par exemple, de segments d'acide nucléique tels que l'ARN ou l'ADN) préparé à l'extérieur de l'organisme (*in vitro*) dans un organisme hôte, ce qui provoque une altération du patrimoine génétique propre de l'organisme (annexe IA, première partie).

Il est important de souligner que seules les caractéristiques du procédé et non les caractéristiques de l'organisme obtenu déterminent si l'organisme est ou non un OGM. Pour définir si un organisme modifié est un OGM, il est, en théorie, insignifiant que la modification génétique envisagée puisse également découler d'une mutation induite par des substances chimiques ou des radiations ou spontanée. Il importe peu de savoir si le matériel génétique introduit provient d'une espèce avec laquelle le croisement est possible ou s'il est présent dans le produit final.

La directive mentionne deux méthodes de modification génétique produisant des organismes à exclure du champ d'application de la loi. Il s'agit de la mutagenèse et de la fusion cellulaire entre organismes dont le croisement est possible. Cependant, ces techniques sont exonérées « *à condition qu'elles n'impliquent pas l'utilisation de molécules d'acide nucléique recombinant ou d'organismes génétiquement modifiés* » (annexe IB). Cela signifie que les organismes dont le matériel génétique a été modifié par l'usage de séquences d'ARN ou d'ADN préparées à l'extérieur de la cellule ou par l'utilisation des OGM ne peuvent pas faire exception à la loi.

Les exceptions sont présentées sous forme de liste fermée. Elles englobent « *certaines techniques de modification génétique qui ont été traditionnellement utilisées pour diverses applications et dont la sécurité est avérée depuis longtemps* » (considérant 17). Aucune des nouvelles techniques ne peut

revendiquer un tel niveau de « *sécurité avérée depuis longtemps* ». La liste fait partie de la directive, le principe de précaution doit par conséquent être pris en compte lors de son interprétation.

La directive de l'UE s'applique également aux organismes dérivés des OGM, notamment les organismes issus du greffage sur des porte-greffes génétiquement modifiés, de la sélection inverse et de certains types de méthylation de l'ADN dirigée par l'ARN (RdDM). Le fonctionnement de ces organismes pourrait être entravé par des composés et métabolites d'OGM, donnant lieu à des répercussions sur la sécurité.

Les évaluations des risques des OGM issus des nouvelles techniques demeurent indispensables

Les nouvelles techniques du génie génétique vont produire des OGM avec des propriétés pouvant présenter des risques pour la santé humaine et l'environnement.

Par exemple :

- Il est possible que les nouvelles cultures génétiquement modifiées issues des techniques innovantes du génie génétique produisent des toxines, des allergènes ou des nutriments altérés et nocifs pour la santé humaine ;
- Il est possible que la viande, le lait ou les œufs provenant d'animaux génétiquement modifiés issus des nouvelles techniques du génie génétique contiennent également des toxines, des allergènes ou des nutriments altérés et nocifs pour la santé ;
- Il est possible que les nouvelles plantes génétiquement modifiées destinées à la production industrielle chimique ou pharmaceutique se retrouvent par inadvertance dans la chaîne alimentaire.

La modification génétique des animaux de ferme soulève également des inquiétudes concernant le bien-être des animaux, car :

- Un taux d'échec élevé chez les mammifères génétiquement modifiés conduit souvent à de nombreux embryons avortés, morts ou déformés ;
- Il est possible que les animaux génétiquement modifiés souffrent de la nouvelle caractéristique acquise par la modification génétique, par exemple, une prise de poids qui les empêche de se déplacer aisément ou la surproduction de lait ;
- Il est possible que les troupeaux ou cheptels d'animaux ou d'oiseaux génétiquement modifiés soient plus vulnérables à certaines maladies s'ils sont tous génétiquement similaires ;
- Il est possible que les technologies du génie génétique puissent s'avérer encore plus néfastes, car elles poussent les animaux au-delà de leurs limites physiologiques.

Ces préoccupations s'appliquent également aux animaux génétiquement modifiés issus des nouvelles techniques du génie génétique. Il est très inquiétant que de telles technologies soient principalement utilisées pour intensifier encore davantage l'élevage et renforcer l'utilisation de systèmes d'élevage intensifs intrinsèquement préjudiciables au bien-être animal. Les nouvelles techniques du génie génétique risquent de nuire encore plus à la santé et au bien-être des animaux de ferme.

Les conséquences à long terme de la dissémination d'OGM dans l'environnement sont difficiles à anticiper et le principe de précaution devrait prévaloir. En effet :

- Les poissons ou les insectes génétiquement modifiés parcourront potentiellement de longues distances, y compris par le transport humain de leurs œufs. La circulation de poissons et d'insectes génétiquement modifiés risque de modifier des écosystèmes de façon imprévisible.
- Les arbres génétiquement modifiés ont de longs cycles de vie et leur pollen, semences et structures végétatives se propagent sur de longues distances ;
- Les plantes génétiquement modifiées peuvent se propager par le pollen ou les semences et se répandre dans de nouvelles zones ou se croiser avec des parents sauvages.

Dans l'UE, la dissémination ouverte d'OGM dans l'environnement est réglementée et tous les nouveaux produits doivent faire l'objet d'une évaluation des risques tenant compte des dangers pour l'environnement, le bien-être des animaux et la santé humaine.³ Des évaluations de risque similaires devraient être nécessaires pour les OGM issus des nouvelles techniques du génie génétique,

³ Législation OGM de l'UE. http://ec.europa.eu/food/plant/gmo/legislation/index_en.htm 5

conformément à la même législation.

L'Accord sur l'application des mesures sanitaires et phytosanitaires (Accord SPS) de l'Organisation mondiale du commerce définit les normes, directives et recommandations relatives à l'innocuité des produits alimentaires établies par la Commission du Codex Alimentarius comme les normes, directives et recommandations internationales.⁴ Cela signifie que le Codex a des implications profondes dans la résolution des différends commerciaux. Bien que les pays ne soient pas obligés d'invoquer de telles normes, si les règlements d'un pays – notamment ceux nécessitant des évaluations de la sécurité et l'étiquetage des aliments issus de ces nouvelles techniques du génie génétique – sont conformes au Codex, ces évaluations ne seraient pas automatiquement considérées comme une barrière commerciale non tarifaire, à condition que d'autres exigences soient respectées, telles que la réalisation d'évaluations en temps voulu.⁵

Ainsi, un pays qui exige des évaluations de la sécurité des aliments issus de ces nouvelles techniques du génie génétique pourrait interdire l'importation de ces aliments s'ils n'ont pas déjà été approuvés explicitement dans le pays d'importation. Aussi, étant donné qu'il n'existe aux États-Unis aucune loi spécifique exigeant que les OGM fassent l'objet d'une évaluation de l'innocuité des denrées alimentaires et que les plantes génétiquement modifiées sont « généralement considérées comme sans danger » par les entreprises mêmes qui les produisent, les produits alimentaires issus de biotechnologies modernes, y compris de l'édition des gènes, peuvent être interdits d'importation dans les pays qui exigent de telles évaluations de la sécurité alimentaire.

Les OGM issus des nouvelles techniques doivent être étiquetés pour les consommateurs

Les consommateurs disposent du droit fondamental de savoir et de choisir ce qu'ils achètent, y compris ce qu'ils mangent. Beaucoup de consommateurs s'inquiètent de la sécurité et du contenu nutritionnel des OGM, du bien-être des animaux de ferme génétiquement modifiés ou de l'impact environnemental de la dissémination d'OGM dans la nature.

Aujourd'hui, il existe une obligation légale d'étiquetage des aliments contenant des OGM dans l'UE.⁶ Les denrées alimentaires contenant des OGM issus des nouvelles techniques du génie génétique devraient également être étiquetées, selon la même législation que celle en vigueur pour les OGM existants. Aux États-Unis, certains États comme le Vermont, le Connecticut, l'Alaska et le Maine ont légiféré sur leur territoire en faveur de l'étiquetage des OGM. Puis, une législation fédérale a été promulguée pour éviter de telles lois locales et, bien que cela soit controversé, devrait imposer une certaine forme d'étiquetage GM pour certains des produits GM.

Le choix de consommer ou non des aliments génétiquement modifiés devrait rester du ressort des consommateurs, mais ce droit de choisir peut être compromis par le mélange de produits génétiquement modifiés avec des produits conventionnels non génétiquement modifiés, en raison de la production commerciale ou des essais sur le terrain. Par conséquent, il est fondamental d'assurer la traçabilité grâce au confinement des produits génétiquement modifiés – y compris ceux produits en utilisant de nouvelles techniques du génie génétique. Si le producteur ne dispose pas d'une connaissance approfondie du statut génétique des ingrédients, le droit du consommateur d'être informé et de choisir ne sera pas garanti.⁷

Le droit de choisir nécessite également le maintien de la chaîne d'approvisionnement en cultures et animaux non génétiquement modifiés et l'étiquetage comme tels des produits génétiquement modifiés.

⁴ Accord de l'OMC sur l'application des mesures sanitaires et phytosanitaires (Accord SPS)
https://www.wto.org/french/tratop_f/sps_f/spsagr_f.htm

⁵ US vs. EU Biotech Products Case: WTO Dispute Backgrounder. IATP. 14 septembre 2005.
<http://www.iatp.org/documents/us-vs-eu-biotech-products-case-wto-dispute-backgrounder>

⁶ Règlement (CE) 1830/2003. <http://eur-lex.europa.eu/legal-content/FR/TXT/?uri=LEGISSUM:I21170>

⁷ Voir la section « Droit de choisir » de la Résolution TACD sur les préoccupations des consommateurs concernant la biotechnologie et les organismes génétiquement modifiés (OGM) de février 2000

Annexe : Nouvelles techniques du génie génétique^{1,2,3,4,5,6,7,8,9,10,11,12,13,14}

Cette annexe fournit des informations générales sur les nouvelles techniques du génie génétique, notamment les techniques d'édition de gènes :

1. Courtes répétitions palindromiques groupées et régulièrement espacées (*clustered regularly interspaced short palindromic repeats system*, CRISPR/Cas) ;
2. Nucléase à doigt de zinc (*zinc finger nucleases*, ZFN) types -1, -2 et -3 ;
3. Nucléases effectrices de type activateur de transcription (*transcription activator-like effector nuclease*, TALEN) ;
4. Méganucléases (MN) ; et
5. Mutagénèse dirigée par oligonucléotide (*oligonucleotide directed mutagenesis*, ODM) ;

Et d'autres nouvelles techniques du génie génétique :

6. Cisgénèse et intragénèse ;
7. Méthylation de l'ADN dirigée par l'ARN (*RNA-dependent DNA methylation*, RdDM)
8. Greffage de greffon non-OGM (scion) sur porte-greffe OGM (et vice versa) ;
9. Sélection inverse (*reverse breeding*, RB)
10. Agroinfiltration : agroinfiltration à proprement parler & agroinfection.

L'édition génétique par nucléase dirigée vers un site (*site directed nucleases*, SDN)

L'édition génétique (ou édition génomique) par nucléases dirigées vers un site (SDN) est une méthode du génie génétique par laquelle l'ADN du génome d'un organisme est introduit, supprimé ou remplacé à l'aide d'enzymes modifiées appelées nucléases, ou « ciseaux moléculaires », qui peuvent couper l'ADN et créer des cassures double brin (*double strand breaks*, DSB). Les DSB ciblées sont possibles grâce à l'utilisation des SDN (également appelées nucléases spécifiques de séquence ou *sequence-specific nucleases*, SSN), enzymes qui reconnaissent et clivent le locus cible (position sur le génome) avec une spécificité élevée. L'édition des gènes utilise ensuite les mécanismes de réparation cellulaire de l'ADN pour créer une variété de modifications ciblées de la séquence d'ADN, allant de délétions d'ADN à l'insertion de longues chaînes de transgènes (matériel génétique transféré d'un organisme à l'autre).

Une fois le chromosome « coupé » à l'aide des ciseaux moléculaires, les cellules utilisent deux mécanismes d'autoréparation possibles pour les réparer : la jonction d'extrémités non homologues (*non-homologous end-joining*, NHEJ) et la recombinaison homologue (RH).

- En utilisant la NHEJ, les extrémités chromosomiques cassées peuvent être soudées ou associées à d'autres molécules d'ADN introduites dans la cellule en même temps que les SDN/SSN. La capture de séquences d'ADN hétérologues (c'est-à-dire les séquences d'ADN provenant d'un organisme différent) peut être utilisée pour obtenir un knock-in du gène ciblé (insertion ciblée). Si deux cassures se produisent simultanément sur le chromosome, elles peuvent engendrer des délétions de gènes ciblées ou d'autres réarrangements.
- Dans la RH, une matrice de réparation est utilisée comme source d'information de séquence d'ADN. Elle est copiée sur le chromosome cassé pour restaurer son intégrité. Les RH peuvent être exploités pour obtenir des modifications ciblées de la séquence d'ADN en introduisant dans la cellule à la fois une SDN/SSN et un modèle de réparation d'ADN présentant une similarité de séquence avec le site de cassure (ce processus est appelé *gene targeting*, lit. ciblage de gènes). La variation de séquence portée par la matrice de réparation est copiée par RH sur le chromosome, ce qui permet d'obtenir une modification ciblée de la séquence d'ADN. L'utilisateur spécifie le type de variation de séquence dans les matrices de réparation, permettant de nombreuses possibilités différentes de modifications apportées au génome. La RH a le potentiel d'introduire des transgènes multiples (empilés) sur le même site et de conférer des propriétés telles que la tolérance aux herbicides chez les plantes.

La plupart des exemples publiés d'édition des gènes utilisent actuellement la réparation NEHJ, car elle est plus facile à mettre en œuvre. La NHEJ est sujette à des erreurs et peut provoquer des effets involontaires, car de petites délétions ou (plus rarement) des insertions peuvent se produire à la jonction du chromosome nouvellement soudé. Si la modification de séquence provoque un décalage du cadre de lecture ou modifie des résidus d'acides aminés clés dans le produit du gène cible, une mutation knock-out (perte de fonction) peut se produire.

Il existe trois catégories de techniques d'édition des gènes utilisant des SDN/SSN : SDN-1, SDN-2 et SDN-3 :

- SDN-1 : petits changements aléatoires d'ADN dirigés vers un site qui peuvent être de petites délétions, des substitutions ou des insertions de nucléotides. Dans ce cas, la cellule « réparera » la cassure au hasard, en utilisant le mécanisme de réparation NHEJ.
- SDN-2 : petits changements d'ADN dirigés vers un site, tels que les « mutations ponctuelles » (remplacement d'un nucléotide). Ici, le mécanisme de réparation est la RH, conformément aux instructions fournies par une « matrice » d'ADN introduite (un segment d'ADN qui a la même séquence que le site cible, mais avec une ou deux altérations mineures ou une petite insertion).
- SDN-3 : insertions majeures dirigées vers un site de gènes ou de séquences régulatrices. Dans le processus du génie génétique, il s'agit de l'ajout d'une matrice d'ADN, comme dans SDN-2, mais la matrice contient également une séquence d'ADN longue (par exemple, un ou plusieurs gènes) qui sera introduite.

Les méthodes d'édition génomique utilisent quatre grandes classes de SSN/SDN : les courtes répétitions palindromiques groupées et régulièrement espacées (CRISPR/Cas) ; les nucléases à doigt de zinc (ZFN) types -1, -2 et -3 ; les nucléases effectrices de type activateur de transcription (TALEN) ; et les méganucléases (MN). Chacune de ces méthodes peut également avoir des effets involontaires (« hors-cible »). Elles peuvent être utilisées pour créer une grande variété de caractéristiques chez les plantes et les animaux, caractéristiques pouvant avoir des incidences sur la santé humaine et l'environnement.

Les nouveaux effets non intentionnels qui découlent de l'utilisation de ces nucléases sont principalement liés aux incertitudes concernant la spécificité de cible (c'est-à-dire si la nucléase ne casse que le site cible ou d'autres sites de l'ADN) et la réparation de la cassure double brin (c'est-à-dire si le mécanisme de réparation fonctionne comme prévu ou s'il introduit des erreurs). En outre, comme l'édition des gènes permet d'introduire de nouvelles propriétés chez les plantes ou les animaux, il faut tenir compte des effets de ces propriétés et de leurs retombées sur la santé et l'environnement. Lorsque l'édition des gènes est utilisée chez les animaux, il y a lieu de s'inquiéter du bien-être des animaux, d'autant plus que les animaux engendrés par l'édition des gènes nécessitent un clonage qui présente un taux d'échec élevé chez les mammifères.

1. Courtes répétitions palindromiques groupées et régulièrement espacées (CRISPR/Cas)

Le système CRISPR/Cas fait partie du système immunitaire de certains organismes unicellulaires et confère une résistance aux éléments génétiques étrangers en les coupant de l'ADN de l'organisme. Les technologies CRISPR/Cas9 utilisent deux composants, la protéine 9 (Cas9) associée au CRISPR et un ARN guide unique, pour effectuer l'édition du génome. L'ARN guide unique est typiquement conçu pour contenir une séquence d'ADN de 20 nucléotides complémentaire d'une séquence cible précédant immédiatement un motif adjacent au proto-espacer (*protospacer adjacent motif*, PAM). La Cas9 peut alors interagir avec l'ARN guide unique et l'ADN cible, créant une cassure du double brin dans l'ADN cible 3 à 4 paires de bases (lettres chimiques) en amont du site PAM. Le PAM est un composant de ciblage essentiel (inexistant dans le génome bactérien) qui distingue l'ADN bactérien propre et étranger, empêchant ainsi le locus CRISPR d'être ciblé et détruit par la nucléase. Le processus est représenté schématiquement dans la figure 1.

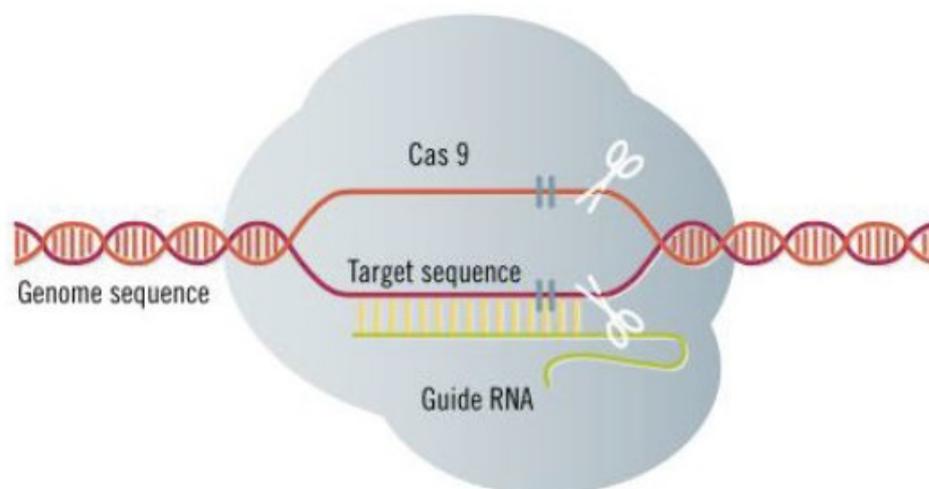


Figure 1 : *Processus d'édition du génome CRISPR/cas9. Source : TestBiotech*

Les CRISPR ont déjà fait l'objet d'expérimentations dans un grand nombre d'espèces, y compris une variété d'espèces de plantes, de poissons-zèbres, de souris, de poules et de moustiques. CRISPR/Cas9 est en passe de devenir la méthode d'édition des gènes de choix en raison de sa polyvalence et de sa facilité d'utilisation. La conception et la production de l'ARN guide unique synthétique sont beaucoup plus simples que la production d'enzymes ZFN et TALEN personnalisées, décrites ci-dessous. En introduisant la nucléase Cas9 et les ARN guides adéquats dans une cellule, le clivage peut être réalisé à l'endroit désiré du génome, permettant la suppression de l'ADN existant et/ou l'introduction de nouvel ADN.

Cependant, les endonucléases guidées par l'ARN ont démontré des effets hors-cible qui peuvent causer des dommages collatéraux sur le génome. Qui plus est, il est possible que CRISPR/Cas soit utilisé pour développer une grande variété de caractéristiques issues du génie génétique dans de nombreux organismes différents et certaines pourraient avoir des effets néfastes sur la santé humaine et l'environnement. Les propositions d'utilisation de CRISPR/Cas pour créer un mécanisme de « forçage génétique » permettant potentiellement qu'un attribut génétiquement modifié se propage dans toute la population d'une espèce (par exemple, plantes ou insectes) ont conduit à débattre de la nécessité d'une réglementation stricte afin d'éviter des effets indésirables potentiels dans des écosystèmes entiers. À ce jour, les tentatives d'utilisation du CRISPR chez les mammifères comme les porcs, les chèvres et les bovins ont eu moins de succès que les TALEN (décrits ci-dessous), avec une récupération plus faible des animaux clonés génétiquement modifiés.

2. Nucléases à doigt de zinc (ZFN) types -1, -2 et -3

Les ZFN sont des protéines conçues sur mesure et utilisées pour couper l'ADN à un endroit précis. Les doigts de zinc sont de petits domaines protéiques qui se lient à plusieurs composants, allant des acides nucléiques aux protéines et autres petites molécules. Le composant « doigt de zinc » (ZF) peut reconnaître un segment d'ADN court et spécifique (9 à 12 bases) et le composant nucléase (N) coupe la molécule l'ADN sur ce site. Deux ZFN – chacun pour lier le brin opposé de l'ADN – sont nécessaires pour couper les deux brins. Cette coupe d'ADN déclenchera alors l'un des deux mécanismes de réparation de l'ADN de la cellule pour rattacher les extrémités libres avec un certain nombre de résultats possibles. Les trois catégories de ZFN-1, -2 et -3 se réfèrent aux trois types de SDN décrites ci-dessus.

Lorsque les ZFN sont utilisées dans les plantes, le gène des ZFN spécifiquement conçues sera communément introduit dans la plante par génie génétique avec une modification génétique standard, ce qui à partir de là en fait un OGM. Une fois que les protéines ZFN se sont exprimées et ont fait leur travail, des lignées de plantes qui ne portent pas le transgène seront sélectionnées. Parallèlement, des systèmes d'expression de phytovirus sont développés là où le gène ZFN est destiné à rester dans le système d'expression virale et à ne pas être intégré dans l'ADN propre à la plante. La perte, le

remplacement ou l'insertion d'un seul nucléotide (mutation ponctuelle) peut suffire à modifier les attributs d'une plante, tels que : sa tolérance aux herbicides, sa stérilité masculine ou féminine, la couleur de ses fleurs, le retardement de la maturation de ses fruits.

Les ZFN ont également été utilisés chez les animaux, notamment chez les porcs.

Changements et risques involontaires :

- Effets hors-cible : la technologie ZFN est connue pour sa liaison non spécifique à l'ADN non cible et entraîne donc un niveau significatif de mutations hors-cible sur le génome. Ces mutations peuvent a) si elles se produisent dans la séquence de codage, entraîner des changements dans la fonction des protéines, ou b) si elles se produisent dans des séquences régulatrices, entraîner des changements de l'expression des gènes, comme une augmentation de la présence de toxines végétales ou l'absence de protéines importantes pour la nutrition, la défense de la plante ou la résistance aux maladies.
- La matrice d'ADN (ZFN-2 et 3) peut s'introduire de manière aléatoire dans le génome, tout comme les insertions transgéniques, en totalité ou en partie, et perturber les gènes et les séquences régulatrices ou entraîner l'apparition de protéines altérées. Cela peut entraîner une diminution de la performance, une augmentation de la vulnérabilité à la maladie, l'accumulation de toxines et de résidus, l'augmentation des allergènes.
- La culture des tissus et les processus de transformation et de transfection sont utilisés dans la production de plantes génétiquement modifiées par ZFN. De tels processus sont connus pour entraîner des mutations supplémentaires.

3. Nucléases effectrices de type activateur de transcription (TALEN)

Les nucléases effectrices de type activateur de transcription (TALEN) sont des enzymes de restriction qui peuvent être conçues pour couper des séquences spécifiques d'ADN. Les TALEN sont similaires aux ZFN, car elles disposent d'un domaine de liaison à l'ADN dérivé des protéines TALE fusionnées à un domaine de clivage *Fok1* pour couper l'ADN. Les protéines TALE sont des facteurs de transcription sécrétées par le pathogène bactérien *Xanthomonas*. De façon analogue aux ZFN, les TALEN peuvent être utilisées pour l'édition génomique en induisant des cassures double brin dans l'ADN, auxquelles les cellules répondent par des mécanismes de réparation. L'activité hors-cible d'une nucléase active peut conduire à des cassures double brin indésirables et par conséquent entraîner des réarrangements chromosomiques involontaires. Les TALEN ont été utilisées expérimentalement pour produire des porcs, des chèvres et des bovins génétiquement modifiés de même que des plantes. La production d'animaux génétiquement modifiés nécessite un clonage, critiqué pour son taux d'échec élevé chez les mammifères, entraînant des avortements spontanés, des fœtus déformés et une mort prématurée de la progéniture clonée.

4. Méganucléases (MN)

Les méganucléases sont des enzymes de restriction naturelles qui peuvent être utilisées pour modifier le génome de toute espèce. Comme pour les autres techniques d'édition génomique, leur utilisation présente des effets hors-cible du fait de la probabilité d'action de la nucléase, même si la séquence ne correspond pas parfaitement. Comme le nombre de méganucléases naturelles est limité, on a tenté de modifier la spécificité des méganucléases existantes en introduisant un petit nombre de variations dans la séquence d'acides aminés ou en associant ou fusionnant des domaines protéiques provenant d'enzymes différentes. Des recherches ont également été entreprises pour combiner leur utilisation avec celle des TALEN.

D'autres nouvelles techniques du génie génétique sont décrites ci-dessous. L'ODM est également une technique d'édition des gènes bien qu'elle n'utilise pas les « ciseaux moléculaires » (SSN/SDN) décrits précédemment. Les autres techniques énumérées ne sont pas considérées comme des techniques d'édition des gènes.

5. Mutagenèse dirigée par oligonucléotide (ODM)

Dans l'ODM, un oligonucléotide, un court segment de matériel génétique monobrin, est produit de manière synthétique. Il est conçu pour être presque identique à la séquence d'ADN du gène cible, à

l'exception de 1 à 4 nucléotides. Cela crée un non-appariement de séquence lorsque l'oligonucléotide se lie au gène cible, induisant un changement de l'ADN spécifique du site (mutation) une fois que le mécanisme de réparation de l'ADN de la cellule est déclenché, de sorte qu'il copie la séquence non appariée plutôt que sa propre séquence d'origine. L'objectif est de créer des petits changements prédéfinis sur des sites très spécifiques dans les gènes, soit pour modifier la fonction du produit génétique, soit pour arrêter sa production.

L'ODM est une technologie d'ingénierie génétique qui peut avoir des incidences directes et indirectes identiques ou similaires à celles des OGM actuels, à la fois en raison des caractéristiques prévues (par exemple, tolérance aux herbicides) et des procédés et méthodes utilisés.

Changements et risques involontaires :

- Effets hors-cible: l'oligonucléotide peut se lier à d'autres sites d'ADN auxquels il est suffisamment similaire et où il provoquera des mutations involontaires. Celles-ci, à leur tour, peuvent entraîner des modifications ou une perte de fonction des protéines, ou des changements dans l'expression des gènes, ce qui entraîne des problèmes tels que l'augmentation de la présence de toxines végétales.
- L'oligonucléotide peut également s'introduire dans l'ADN de la plante, d'une manière similaire aux insertions transgéniques, perturbant les gènes et les séquences régulatrices ou engendrant potentiellement des protéines modifiées.
- Il est établi que l'utilisation de la culture tissulaire et des méthodes de transformation ou transfection de type GM conduit à des mutations involontaires à l'échelle du génome.
- Des mutations proches du site cible ont été observées dans des organismes génétiquement modifiés dérivés d'ODM.
- Selon les oligonucléotides utilisés, il existe un risque qu'ils interfèrent avec la régulation de l'expression des gènes par la cellule, en déclenchant l'action de l'ARNi, ce qui peut conduire au silence du gène (*gene silencing*) sur plusieurs générations. Cela peut être plus fréquent pour les oligonucléotides qui contiennent des nucléotides d'ARN.

6. Cisgénèse et intragénèse

La cisgénèse et l'intragénèse sont à la base des techniques similaires à la transgénèse, mais au lieu d'obtenir l'ADN à partir d'espèces totalement différentes ou de synthétiser une nouvelle séquence d'ADN, l'ADN introduit sera issu des mêmes espèces ou étroitement apparentées à celles avec lesquelles la plante serait, en théorie au moins, capable de se reproduire/croiser. Dans la « cisgénèse », on utilise une copie conforme à une séquence génétique complète trouvée dans l'organisme donneur. Dans « l'intragénèse », la séquence du gène introduite est un réarrangement de séquences et d'éléments provenant de différents gènes d'une ou plusieurs espèces étroitement liées.

Changements et risques involontaires :

Que les séquences de gènes proviennent ou non d'espèces voisines, le processus de génie génétique est toujours le même, impliquant les mêmes risques et l'imprévisibilité connus dans la transgénèse. À savoir :

- intégration aléatoire du gène transféré capable de perturber un autre gène ou d'interférer avec la régulation des gènes voisins (effets positionnels).
- mutations sur le site d'insertion et mutations sur le génome résultant des processus de transformation, y compris les effets de la culture tissulaire. Ceux-ci peuvent inclure des délétions, des réarrangements et des multiplications de séquences d'ADN.
- potentielle mise sous silence du gène introduit ou des gènes propres à la plante si les séquences promotrices présentent une grande similitude (homologie).
- re-cisgénèse : le fait que le gène inséré provienne d'une espèce apparentée ne prévient en aucune manière les effets involontaires ou imprévisibles, car ni ce gène particulier ni son produit n'auraient été présents dans ce contexte ou cette position génétique. Par conséquent, le gène peut s'exprimer de manière différente à celle dont il s'exprimait dans la plante dont il est issu et/ou interagir (interférer, par exemple) dans l'amplitude de la régulation des gènes ou des voies métaboliques. Cela peut donner lieu à des comportements et des performances

altérés, à une plus grande vulnérabilité aux maladies, à une aptitude accrue et/ou à l'invasivité, à une composition modifiée des molécules de signalisation, des nutriments, des toxines et des allergènes.

- re-intragenèse : les séquences génétiques assemblées dans un tel gène n'auraient jamais existées dans cette composition et dans ce contexte réglementaire. Leur comportement et leurs interactions ne peuvent être prédits simplement en connaissant la séquence d'ADN ou en sachant que ces séquences sont dérivées d'organismes apparentés.

7. Méthylation de l'ADN dirigée par l'ARN (RdDM)

La méthylation de l'ADN dirigée par l'ARN (RdDM) est un processus dans lequel les molécules d'ARN conditionnent la cellule afin qu'elle ajoute des groupes méthyles (-CH₃) à certains nucléotides le long d'un segment spécifique d'ADN, l'objectif étant de mettre un gène sous silence. La méthylation de la région promotrice d'un gène inhibera l'expression de ce gène. Même si une telle mise sous silence génétique n'est pas une altération permanente, elle sera héritée pendant de nombreuses générations. Elle finit par se résorber, bien que les déclencheurs du renversement de la méthylation ne soient ni connus ni compris. Tout ARN double brin disposant d'une séquence correspondante à celle d'un segment de l'ADN va initier la méthylation de ces séquences d'ADN, et ainsi mettre sous silence le gène associé. Il existe plusieurs façons d'introduire des séquences spécifiques d'ARN double brin dans une cellule, par exemple :

- modification génétique de la plante avec un gène qui produira un tel ARN (avec une séquence « inversée » (renversée)). Pour avoir une mise sous silence transitoire des gènes, c'est-à-dire pour quelques générations seulement, le gène inséré peut être supprimé (désélectionné) par retour en arrière dans le processus de sélection.
- infection des plantes avec des virus végétaux génétiquement modifiés (contenant la séquence promotrice ciblée), ce qui entraînera le silence du gène ciblé par méthylation. (*Virus Induced Gene Silencing*, VIGS - RdDM)
- pulvérisation d'une plante avec de l'ARN double brin.

L'un des objectifs de la RdDM est d'obtenir un nouvel attribut pour un certain nombre de générations de graines, sans pour autant changer la séquence d'ADN existante, c'est-à-dire la séquence de nucléotides, dans l'organisme. La technique de RdDM sert plutôt à mettre sous silence un gène spécifique de la cellule et donc éliminer le produit génique de ce gène. Ceci peut donner lieu à des propriétés souhaitées telles que le retard de la maturation des fruits, des fleurs aux couleurs différentes, une teneur optimisée en nutriments spécifiques, la stérilité masculine.

Changements et risques involontaires :

- effets hors-cible : mise sous silence des autres gènes entraînant une modification des attributs, avec des conséquences négatives potentielles telles que la production et l'accumulation de toxines et d'allergènes, la teneur réduite en éléments nutritifs, la vulnérabilité aux maladies.
- la mise sous silence du gène cible peut non seulement arrêter la fabrication du produit génique (c'est-à-dire la protéine), mais en fonction de l'implication possible de cette protéine dans d'autres voies, peut provoquer d'autres effets imprévisibles (souvent appelés effets pléiotropes). Cela peut avoir des incidences sur tout ce qui est lié à ces voies, par exemple : facteurs de croissance, mécanismes de défense et de signalisation, accumulation de composés, etc.
- spécifique à l'ARN double brin : en fonction de la méthodologie utilisée, la présence de molécules d'ARN double brin dans la chaîne alimentaire et l'environnement peut avoir un impact négatif sur les organismes qui les ingèrent, car elles peuvent passer dans la chaîne alimentaire, être amplifiées et entraîner la coupure de gènes essentiels. Ceci entraînerait des conséquences écologiques et sanitaires à grande échelle.

8. Greffage de greffon non-OGM (scion) sur porte-greffe OGM (et vice versa)

Le greffage (des arbres fruitiers, des vignes, des tomates) est un moyen de combiner la force ou les attributs désirés de deux organismes dans un seul sans avoir à les croiser, en choisissant, par exemple, un porte-greffe pour la résistance aux maladies et un greffon ou scion pour la saveur du

fruit. Bien que l'association crée une chimère (un organisme unique composé de cellules génétiquement distinctes), le greffon et le porte-greffe en eux-mêmes conserveront leurs propres identités génétiques pour ce qui est de la séquence basique de leur ADN. Obtenir une plante chimérique génétiquement modifiée nécessite, par définition, le recours au génie génétique. L'utilisation d'un porte-greffe GM permet de faire bénéficier au greffon des caractéristiques génétiquement modifiées sans qu'il soit défini comme GM ou qu'il reçoive de l'ADN GM, bien que, la plante en elle-même soit génétiquement modifiée. Ainsi, le tissu du greffon à proprement parler n'a pas été génétiquement modifié, mais le porte-greffe, si. Pourtant, beaucoup de molécules produites par porte-greffe génétiquement modifié, que ce soit des protéines, certains types d'ARN (ARN double brin par exemple), des hormones, des molécules de signalisation ou de défense, peuvent se propager dans l'ensemble de la plante chimérique.

Changements et risques involontaires :

- Impact du porte-greffe génétiquement modifié sur l'environnement : les processus du génie génétique, tels que la transformation et la culture tissulaire, induisent des mutations génomiques, ainsi que des mutations sur le site d'insertion. Celles-ci peuvent conduire à des attributs modifiés et inattendus, avec des conséquences négatives possibles sur les sols et l'environnement. Les effets positionnels des gènes introduits, tels que l'affectation de l'expression génique des gènes voisins, peuvent également amener des retombées négatives.
- Les composés et métabolites produits par le porte-greffe génétiquement modifié seront présents dans le greffon et ses produits (ses fruits, par exemple) et peuvent modifier la composition du fruit/produit, et par conséquent changer la composition en nutriments, allergènes ou toxines.
- Si la méthodologie ARNi (interférence) est utilisée dans le porte-greffe génétiquement modifié, la mise sous silence du gène dans l'ADN des porte-greffes peut se transférer à l'ADN du greffon par le mouvement de petites molécules d'ARN du porte-greffe vers le greffon. Cela risque de mettre sous silence les gènes du greffon et modifier ses attributs.

9. Sélection inverse

La sélection inverse est une technologie GM destinée à reconstituer des lignées parentales génétiquement uniformes et pures (homozygotes) à partir d'un hybride existant dont les lignées parentales ne sont plus disponibles ou ont disparu. L'obstacle majeur étant que, chaque fois que des gamètes (cellules reproductrices) sont produits, les chromosomes précédemment acquis à partir des lignées parentales intervertissent des informations dans une étape de recombinaison génétique, mélangeant ainsi l'ADN. Pour éviter cela, la graine hybride sélectionnée est génétiquement modifiée pour supprimer cette recombinaison génétique (en utilisant l'ARNi). À l'aide de la culture tissulaire, les gamètes individuels résultants sont utilisés pour reconstituer les plantes avec deux ensembles des mêmes chromosomes (appelé « double haploïde »). Plus tard, le gène génétiquement modifié est désélectionné et les lignées parentales choisies pour que – en combinaison – elles engendrent l'hybride envisagé.

Changements et risques involontaires :

Comme les mêmes processus d'ingénierie génétique sont utilisés à la fois pour introduire des gènes et pour reconstituer des plantes à travers la culture tissulaire, les mêmes risques et résultats imprévisibles sont possibles qu'avec les autres GM. Ils comptent généralement :

- Mutations sur le site d'insertion et mutations génomiques (par exemple, délétions, réarrangements, multiplications) résultant des processus de transformation, y compris de la culture tissulaire, avec des conséquences imprévisibles, ce qui pourrait entraîner des performances modifiées et une vulnérabilité à la maladie, une accumulation de toxines, une augmentation de la production d'allergènes et des changements dans la composition nutritionnelle.
- La grande majorité de ces mutations resteraient présentes dans les lignées parentales reconstituées, même si le gène génétiquement modifié lui-même est désélectionné et avec lui les mutations les plus étroitement associées au site d'insertion.
- La méthode de mise sous silence du gène modifié de l'ARNi peut conduire à la mise sous silence non ciblée d'autres gènes, des effets qui perdureront sur des générations de

semences.

- Des composants fonctionnels ou des séquences entières du gène modifié peuvent s'être intégrés ailleurs en plus de l'insertion primaire. Ils ne peuvent donc pas être supprimés par le processus de désélection, ce qui leur permet potentiellement d'engendrer le silence génétique dans la région cible ou dans des zones hors-cible.

10. Agroinfiltration : agroinfiltration à proprement parler & agroinfection

Cette méthode implique deux technologies distinctes. Il ne s'agit pas de faire en sorte que des gènes modifiés spécifiques soient introduits de manière stable et intégrés sur le génome de la plante, mais plutôt que de tels gènes soient présents dans la cellule végétale de manière transitoire, au maximum pour une seule génération.

À cette fin, les gènes codant pour des protéines spécifiques ou pour des ARN destinés à interférer avec les propres gènes de la plante (par exemple, via ARNi) sont incorporés dans le plasmide de la bactérie *Agrobacterium tumefaciens*. Une solution contenant de telles agrobactéries ou leurs plasmides est ensuite utilisée pour traiter des tissus spécifiques de plantes vivantes (par exemple, des feuilles) de façon à ce que les plasmides génétiquement modifiés soient délivrés aux cellules dans ce tissu, où ces gènes seront exprimés avec l'ARN spécifique.

Les objectifs peuvent être : tester des transgènes potentiels ; étudier la fonction des gènes propres à la plante (par silence du gène via ARNi, par exemple) ; exprimer et produire des protéines de haute valeur dans les plantes (pour l'industrie pharmaceutique, par exemple) ; produire des plantes, des graines, des hybrides présentant des attributs modifiés à travers RdDM (méthylation de l'ADN dirigée par l'ARN) ; ou comme un système de livraison pour d'autres outils des nouvelles techniques du génie génétique basées sur les modifications génétiques, tels que les nucléases dirigées vers le site. Il existe deux technologies distinctes :

- agroinfiltration *stricto sensu* (au sens propre du terme) : l'intention est de maintenir l'expression et l'effet du gène localisés, de sorte que la construction génique préparée et utilisée ne se réplique pas.
- agroinfection : l'intention est de répandre le gène génétiquement modifié spécifique dans toute la plante, dans presque tous les tissus, mais sans l'introduire dans l'ADN de la plante. À cet effet, en plus du gène choisi, la construction génique contient une séquence de vecteurs viraux permettant de reproduire la construction dans toutes les cellules infectées. Le gène de l'ARN est censé être exprimé à partir de l'emplacement du vecteur et non d'un emplacement dans l'ADN de la plante.

Changements et risques involontaires :

- Bien qu'appliquée localement, la construction génique peut se propager dans toute la plante en raison des agrobactéries et/ou des séquences vectorielles virales utilisées. Bien qu'il soit transitoire, le matériel génétique peut s'intégrer à l'ADN de la plante, y compris au tissu reproducteur et entraîner involontairement des OGM et une descendance génétiquement modifiée.
- L'intégration peut se produire au hasard sur le génome et peut également impliquer toutes séquences génétiques introduites, y compris l'ADN vectoriel. Une anomalie des gènes due à des effets de position ou des séquences présentes dans la construction génique peut donner lieu à des retombées négatives sur la performance, l'environnement et la biodiversité de la plante, ou sur son innocuité en tant que denrée alimentaire.
- La dissémination accidentelle d'agrobactéries génétiquement modifiées dans l'environnement est possible (soit en raison de la propagation et de la contamination par des matières végétales infiltrées rejetées ou retirées, soit simplement par déversement, par exemple dans le laboratoire, la serre ou les parcelles d'essai). Cela pourrait entraîner des effets néfastes si les constructions géniques sont transférées à d'autres plantes ou à des microorganismes.

Références

¹ Steinbrecher R. (2015) Genetic Engineering in Plants and the "New Breeding Techniques (NBTs)": Inherent risks and the need to regulate. <http://www.econexus.info/publication/genetic-engineering-plants-and-new-breeding-techniques>

- ²Eckerstorfer M., Miklau M., Gaugitsch H. (2014) New Plant Breeding Techniques and Risks Associated with their Application. Environment Agency Austria. Umweltbundesamt. REPORT REP-0477 Vienne 2014. <http://www.umweltbundesamt.at/fileadmin/site/publikationen/REP0477.pdf>
- ³Voytas D.F., Gao C. (2014) Precision Genome Engineering and Agriculture: Opportunities and Regulatory Challenges. *PLoS Biol*, **12**(6), e1001877. <http://doi.org/10.1371/journal.pbio.1001877>
- ⁴Esvelt K.M., Smidler A.L., Catteruccia F. & Church G.M. (2014) Concerning RNA-guided gene drives for the alteration of wild populations. *eLife*, e03401. <http://doi.org/10.7554/eLife.03401>
- ⁵Khatodia S., Bhatotia K., Passricha N., Khurana S.M.P., Tuteja N. (2016) The CRISPR/Cas Genome-Editing Tool: Application in Improvement of Crops. *Frontiers in Plant Science*, **7**, 506. <http://doi.org/10.3389/fpls.2016.00506>
- ⁶Schaeffer S.M. & Nakata, P.A. (2016) The expanding footprint of CRISPR/Cas9 in the plant sciences. *Plant Cell Reports*, **35**(7), 1451–1468. <http://doi.org/10.1007/s00299-016-1987-x>
- ⁷Agapito-Tenfen S.Z., Wikmark O-G. (2015) Current status of emerging technologies for plant breeding: Biosafety and knowledge gaps of site directed nucleases and oligonucleotide-directed mutagenesis. Biosafety report 02/2015. GenØk – Centre for Biosafety, Tromsø, Norvège. Janvier 2015. http://genok.no/wpcontent/uploads/2015/06/250615_Emerging_technologies_final.pdf
- ⁸Hartley S., Gillund F., van Hove L., Wickson F. (2016) Essential Features of Responsible Governance of Agricultural Biotechnology. *PLoS Biology*, **14**(5), e1002453. <http://doi.org/10.1371/journal.pbio.1002453>
- ⁹Tan W., Carlson D.F., Lancto C.A., Garbe J.R., Webster D.A., Hackett P.B., Fahrenkrug S.C. (2013) Efficient nonmeiotic allele introgression in livestock using custom endonucleases. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 201310478. <http://doi.org/10.1073/pnas.1310478110>
- ¹⁰Hammond A., Galizi R., Kyrou K., Simoni A., Siniscalchi C., Katsanos D., Gribble M., Baker D., Marois E., Russell S., Burt A., Windbichler N., Crisanti A., Nolan T. (2015) A CRISPR-Cas9 gene drive system targeting female reproduction in the malaria mosquito vector *Anopheles gambiae*. *Nature Biotechnology*, advance online publication. <http://doi.org/10.1038/nbt.3439>
- ¹¹Lezaun J., Porter N. (2015) Containment and competition: transgenic animals in the One Health agenda. *Social Science & Medicine*, **129**, 96–105. <http://doi.org/10.1016/j.socscimed.2014.06.024>
- ¹²Heinemann J.A., Agapito-Tenfen S.Z., Carman J.A. (2013) A comparative evaluation of the regulation of GM crops or products containing dsRNA and suggested improvements to risk assessments. *Environment International*, **55**, 43–55. <http://doi.org/10.1016/j.envint.2013.02.010>
- ¹³Lillico S.G., Proudfoot C., Carlson D.F., Stverakova D., Neil C., Blain C., Ritchie W.A., Tan S., Mileham A., McLaren D., Fahrenkrug S.C., Whitelaw C.B.A. (2013) Live pigs produced from genome edited zygotes. *Scientific Reports*, **3**. <http://doi.org/10.1038/srep02847>
- ¹⁴Then C. (2016) Synthetic gene technologies applied in plants and animals used for food production. TestBiotech. http://www.testbiotech.org/sites/default/files/Gene_editing_plants_and_animals_0.pdf