

La nécessité d'une analyse prospective et d'une évaluation des technologies pour faire face à la nature évolutive du génie génétique

Eva Sirinathsinghi et Lim Li Ching

Introduction

La gouvernance et la réglementation des progrès des sciences de la vie et de l'agriculture entraînent le pas quant aux innovations techniques et quant à l'évolution de notre compréhension de la science qui sous-tend les technologies du génie génétique. Ces technologies, qui revêtent principalement la forme de techniques transgéniques, ont été commercialisées pour la première fois il y a près de trois décennies, mais peu de caractéristiques ont atteint le marché. Grâce aux progrès de la science et de la technologie, ce domaine tente d'explorer de nouvelles techniques de génie génétique susceptibles d'élargir la portée, l'applicabilité et la profondeur des interventions.

Cependant, les nouvelles techniques de génie génétique évoluent au-delà de la portée actuelle des définitions juridiques, de la gouvernance des risques et des mécanismes de consentement, les interventions s'orientant de plus en plus vers des projets à l'échelle des écosystèmes des cultures, de la santé humaine et des interventions de conservation du climat ou de la biodiversité (Greiter et al., 2022; Heinemann, 2019; Sirinathsinghi, 2019). De telles avancées au niveau technique soulèvent de nouveaux risques en termes de biosécurité qui justifient de toute urgence des méthodologies d'évaluation et des réglementations actualisées et ce afin de combler les importantes lacunes en matière de connaissances sur la biosécurité et les niveaux croissants d'incertitude quant à l'impact de ces technologies sur la biodiversité et la santé humaine.

De plus, un examen approfondi de leurs limites potentielles à atténuer les problèmes sociétaux qu'elles sont censées résoudre, et que les organismes vivants modifiés (OVM) existants n'ont pas été en mesure de combattre, est également nécessaire. En effet, bon nombre des préoccupations initiales soulevées par la commercialisation des OVM se sont confirmées, notamment les problèmes d'efficacité et les effets agronomiques et écologiques involontaires entraînant de mauvaises récoltes à répétition et des dommages

Le Réseau Tiers-Monde (Third World Network, TWN) est une organisation internationale indépendante à but non lucratif de recherche et de défense des droits, qui s'emploie à mieux articuler les besoins, les aspirations et les droits des peuples du Sud et à promouvoir un développement juste, équitable et écologique.

Publié par Third World Network Berhad (198701004592 (163262-P))

Adresse : 131 Jalan Macalister, 10400 Penang, MALAISIE **Tél :** 60-4-2266728/2266159 **Fax :** 60-4-2264505

Courriel : twn@twnnetwork.org **Site web :** www.twn.my

Le contenu de cette publication peut être reproduit ou réutilisé gratuitement à des fins non commerciales, sauf indication contraire. Cette publication est sous licence Creative Commons Attribution – Pas d'Utilisation Commerciale – Pas de Modification 4.0 International.

économiques, en particulier pour les petits exploitants agricoles (voir par exemple ENSSER, 2021; Kranthi & Stone, 2020; Luna & Dowd-Urbe, 2020; Wilson, 2021). Alors que de nouvelles technologies sont en cours de développement pour résoudre les problèmes que les OVM de première génération n'ont pas réussi à résoudre, les partisans de ces technologies en vantent à nouveau les avantages potentiels et se permettent des déclarations générales en matière de sécurité.

Dans ce contexte, il est impératif que l'analyse prospective et l'évaluation des technologies soient pleinement opérationnelles pour protéger la biodiversité et la santé humaine contre les nouvelles technologies de génie génétique, y compris la biologie synthétique, qui ne sont pas encore totalement comprises et qui sont actuellement difficiles, voire impossibles, à contrôler, à inverser ou à retirer de l'environnement une fois relâchées.

Discussions dans le cadre de la CDB

Les parties à la Convention sur la diversité biologique (CDB) ont déjà l'obligation, en vertu de l'article 7, d'identifier et de surveiller les processus et activités qui ont ou sont susceptibles d'avoir des effets délétères importants sur la conservation et l'utilisation durable de la diversité biologique, et de surveiller leurs effets. Ils ont également l'obligation, en vertu de l'article 14, d'évaluer les incidences des projets, programmes et politiques qui sont susceptibles d'avoir des effets délétères importants sur la diversité biologique. Ces obligations découlant du traité peuvent être mises en œuvre par le biais de l'analyse et du suivi des horizons et de l'évaluation des technologies, respectivement.

L'analyse prospective s'entend comme un moyen d'analyser la littérature et les recherches existantes, y compris les applications en cours de développement, en vue d'identifier et de suivre les nouveaux développements, ainsi que d'anticiper tout effet négatif potentiel. Cela fournira également les informations nécessaires à l'adaptation des méthodologies d'évaluation et de gestion des risques qui pourraient être nécessaires à la lumière de la nature évolutive du génie génétique (Greiter et al., 2022).

L'évaluation des technologies est une approche bien établie qui inscrit l'évaluation des risques dans une perspective sociétale plus large (Greiter et al., 2022). C'est important, car les technologies n'ont pas seulement des impacts sur l'environnement ou la santé humaine, mais aussi des implications socio-économiques, culturelles et éthiques. Dans le contexte de la CDB et de son protocole de Carthagène sur la biosécurité, où le rôle des populations autochtones et des communautés locales (PIPC de son acronyme anglais) dans la gestion de la biodiversité, ainsi que la valeur de la biodiversité pour elles, sont explicitement reconnus, ces aspects revêtent une importance particulière.

Dans le cadre des discussions sur la biologie de synthèse, les Parties à la CDB ont déjà convenu en 2018, dans la décision 14/19, qu'« il est nécessaire de procéder à un balayage de l'horizon, un suivi et une évaluation larges et réguliers des développements technologiques les plus récents pour examiner les nouvelles informations concernant les impacts positifs et négatifs potentiels de la biologie de synthèse vis-à-vis des trois objectifs de la Convention et de ceux du Protocole de Cartagena et du Protocole de Nagoya ».

Les négociations actuelles dans le cadre du point de l'ordre du jour consacré à la biologie synthétique portent sur la mise en place du processus d'analyse prospective, de surveillance et d'évaluation, notamment sur la création ou non d'un groupe d'experts multidisciplinaire chargé de ces tâches, tout cela devant encore faire l'objet d'un accord.

En parallèle, les parties à la CDB négocient actuellement le Cadre mondial pour la biodiversité (CMB) pour l'après 2020, qui est censé aborder la mise en œuvre de la CDB jusqu'en 2030, telle qu'exprimée dans les objectifs et les cibles. Les cibles 17 et 19.2 actuelles contiennent des propositions de texte se rapportant à l'analyse le suivi et l'évaluation de l'horizon technologique, et ces propositions doivent être soutenues afin de garantir que le CMB est adapté à son objectif, permettant d'examiner les développements rapides des nouvelles technologies de génie génétique et d'anticiper, de suivre et d'évaluer leurs effets négatifs potentiels.

En outre, le texte appelant à l'accès et au transfert de technologies devrait être associé aux notions d'analyse, de surveillance et d'évaluation de l'horizon technologique, de sorte que toute technologie transférée soit soumise à ce processus. Cela permettra de s'assurer que seules les technologies appropriées, socialement acceptables et respectueuses de l'environnement sont accessibles et transférées.

Le présent document fournit quelques exemples de nouveaux développements en matière de génie génétique, tels que le forçage génétique, les virus génétiquement modifiés et interférence ARN – afin de démontrer pourquoi l'analyse prospective et l'évaluation des technologies sont nécessaires de toute urgence.

Les technologies du forçage génétique

Les technologies du forçage génétique sont une forme de génie génétique conçue pour déformer l'héritage de la caractéristique modifiée de telle sorte que la plupart, voire la totalité, de la descendance hérite de cette caractéristique, dans le but de la « propulser » rapidement dans une population. Diverses applications ont été proposées, les plus avancées et les plus promues étant les moustiques génétiquement modifiés qui visent à réduire la charge des maladies à transmission vectorielle, comme le paludisme ou la dengue. Le projet Target Malaria vise à utiliser le forçage génétique pour éliminer les populations de moustiques (suppression de population) en diffusant des caractéristiques d'infertilité ou de sexe biaisé, tandis que d'autres projets visent à modifier la transmission (modification de population) d'agents pathogènes à l'homme. Des applications agricoles, telles que l'élimination des parasites, ainsi que des applications à la conservation, telles que l'élimination des espèces envahissantes, sont également envisagées (CSS et al., 2019).

Divers mécanismes moléculaires sont déployés pour obtenir la caractéristique du forçage, le plus courant étant l'utilisation de technologies d'édition du génome telles que les systèmes CRISPR. Ceux-ci sont incorporés dans l'organisme de forçage génétique afin d'effectuer le génie génétique « *live* » à l'intérieur des organismes sauvages, en « coupant et collant » l'ADN transgénique sur chaque génération à perpétuité. Décrit comme un transfert du laboratoire au terrain (Simon et al., 2018), plutôt que de réaliser le génie génétique en laboratoire où, en théorie, ce processus peut être évalué pour des questions de biosécurité, le forçage génétique signifie que tout effet involontaire ne peut être exclu avant la dissémination.

Les effets involontaires au niveau moléculaire ont été largement documentés avec les techniques d'édition du génome telles que celles déployées pour le forçage génétique. Il s'agit notamment d'effets sur cible et hors cible, de la production de nouvelles protéines et d'impacts cellulaires (voir par exemple Agapito-Tenfen et al., 2018 ; Biswas et al., 2020 ; Brunner et al., 2019 ; GeneWatch UK, 2021 ; Ihry et al., 2018 ; Kawall, 2019 ; Norris et al., 2020 ; Ono et al., 2019 ; Skryabin et al., 2020 ; Tuladhar et al., 2019), avec des effets sur les nouvelles générations (Zhang et al., 2018). Ces effets involontaires peuvent continuer à se produire ou à s'accumuler après la libération, et se propager avec des conséquences inconnues en ce qui concerne leur interaction avec l'environnement, les agents pathogènes ou les humains qui peuvent être exposés aux organismes issus du forçage génétique et à tout agent pathogène qu'ils peuvent renfermer. Les impacts évolutifs de ces effets sur les nouvelles générations sont totalement inconnus et posent de nouveaux défis aux méthodologies d'évaluation des risques, comme l'a conclu le Groupe spécial d'experts techniques (AHTEG) sur l'évaluation et la gestion des risques du Protocole de Cartagène sur la prévention des risques biotechnologiques (AHTEG, 2020).

Contrairement aux OVM existants, les manipulations génétiques sont conçues pour se propager et persister. Les conséquences écologiques de ce phénomène sont inconnues, par exemple tout impact potentiel sur les réseaux alimentaires plus larges de l'organisme cible, ou sur les organismes non ciblés qui sont liés par le flux de gènes à l'organisme cible lui-même. Les effets écologiques peuvent prendre des décennies avant d'être visibles et sont notoirement difficiles à étudier. L'utilisation du génie génétique pour éliminer les espèces envahissantes peut avoir des effets néfastes inattendus si des rôles fonctionnels ont été intégrés dans les écosystèmes (Lim & Traavik, 2007 ; Sirinathsinghji, 2020). De telles interventions présentent également le risque de se propager à l'organisme cible dans son aire de répartition d'origine, avec des dommages écologiques potentiellement graves.

Les discussions autour des applications aux maladies n'ont pas non plus suffisamment pris en compte les impacts négatifs potentiels sur l'épidémiologie des maladies. La manière dont tout effet, intentionnel ou non, peut avoir un impact sur la transmission des maladies est inconnue et difficile à évaluer avant la dissémination (Beisel & Boëte, 2013 ; Sirinathsinghji, 2020). Cela concerne par exemple la façon dont les modifications peuvent altérer la transmission de la maladie ou la pathogénicité de l'agent pathogène cible (ou non cible), en particulier avec des moteurs de modification de la population qui exerceront une pression sur les agents pathogènes pour qu'ils évoluent autour de la caractéristique modifiée. Plus important encore, ces risques, partiellement reconnus par les concepteurs (James et al., 2020), ne peuvent être évalués de manière exhaustive en laboratoire. En outre, la capacité des vecteurs à transmettre des maladies dépend de facteurs environnementaux plus larges, par exemple les symbiotes bactériens des moustiques. On ne connaît pas l'impact du processus de génie génétique sur ces facteurs. Et l'impact potentiel des manipulations génétiques sur l'épidémiologie des maladies demeure hautement incertain, même si elles sont capables de réduire le nombre de moustiques.

Enfin, les manipulations génétiques sont actuellement irréversibles, et il n'existe aucune stratégie pour rappeler, inverser ou atténuer une libération de manipulations génétiques. Bien qu'il existe des propositions visant à libérer des systèmes de forçage génétique atténuants un forçage génétique qui dérape, celles-ci ne font qu'ajouter à l'incertitude et à la complexité, des recherches ayant récemment démontré des effets génétiques involontaires avec certaines techniques portant sur des mouches en laboratoire (Xu et al., 2020). La façon dont les différents éléments génétiques interagissent une fois que les systèmes multiples sont libérés dans l'environnement, avec le développement continu de nouveaux systèmes de forçage génétique, ajoute encore plus à l'incertitude et à la complexité justifient une analyse de l'horizon pour surveiller continuellement ces développements. De nouveaux développements sont également en cours dans les systèmes bactériens, avec des applications pour lutter contre la résistance aux antibiotiques et aux infections bactériennes, en tirant parti des processus naturels de transfert horizontal de gènes dans les bactéries. Ces développements ont jusqu'à présent suscité peu d'attention mais doivent être suivis de près.

Il est nécessaire d'évaluer les technologies en tenant compte non seulement de la biosécurité, mais aussi de leur pertinence et des considérations éthiques et politiques. Les questions relatives au consentement, en particulier l'obtention du consentement libre, préalable et éclairé des communautés autochtones et locales potentiellement concernées, sont cruciales et font partie des discussions plus larges se rapportant aux manipulations génétiques. Les déterminants sociaux, politiques et commerciaux de la maladie doivent être pris en compte lors de l'évaluation des coûts et avantages potentiels des applications de génie génétique. Si l'on se concentre sur la lutte antivectorielle, on risque de marginaliser des facteurs déterminants pour la santé, tels que le renforcement des systèmes de soins de santé, l'accès aux traitements, la réduction de la pauvreté et les interventions sanitaires plus larges, qui doivent être intégrés dans les discussions sur l'évaluation technologique.

Virus génétiquement modifiés

Des efforts sont en cours pour modifier génétiquement les virus pour un large éventail d'applications agricoles et sanitaires (Greiter et al., 2022 ; Lentzos et al., 2022 ; Reeves et al., 2018). L'utilisation de virus représente certaines des applications d'ingénierie environnementale les plus récentes et les plus agressives en cours de développement. Les virus génétiquement modifiés qui sont capables de se propager dans l'environnement posent un certain nombre de défis aux protocoles actuels d'évaluation des risques et de consentement.

Les virus peuvent potentiellement se propager rapidement, infecter de nombreuses espèces hôtes, et évoluer rapidement pour modifier des caractéristiques telles qu'une transmissibilité accrue, ou pour trouver de nouvelles espèces hôtes. La manière dont une évaluation précise peut être effectuée avant la dissémination, lorsque de tels effets sur les prochaines générations sont prévus, constitue un défi fondamental. Les applications sont nombreuses et comprennent l'utilisation de virus pour fournir aux espèces végétales des machines à modifier le génome, appelées « agents d'altération génétique environnementale horizontale » (HEGAA de son acronyme anglais), l'utilisation de virus comme vaccins autodiffusés dans la nature et l'utilisation des virus eux-mêmes pour modifier les caractéristiques des plantes.

Dans le domaine de l'agriculture, l'agence américaine *Defence Advanced Research Projects Agency* (DARPA) (spécialisée dans les projets de recherche avancée en matière de défense) finance le projet HEGAA *Insect Allies* (insectes allies). Ce projet prévoit d'utiliser des insectes comme vecteurs pour délivrer des virus génétiquement modifiés directement dans les champs cultivés afin de modifier les cultures, potentiellement en délivrant des machines d'édition du génome aux cultures (Sirinathsinghji, 2019). Les objectifs déclarés sont de protéger les systèmes de culture américains contre les menaces naturelles et artificielles potentielles. Cependant, le projet semble aller au-delà de la modification du système alimentaire américain, car il vise également sur des cultures qui sont des aliments de base dans les pays en développement, comme le manioc et le niébé. Alors que le projet prétend que l'objectif est de créer des altérations transitoires qui ne sont pas héréditaires, il a été démontré que les virus utilisés infectent les cellules germinales et génèrent donc des modifications héréditaires.

Des vaccins à diffusion autonome sont également financés, et comprennent notamment un projet de la DARPA visant à développer des vaccins viraux à utiliser chez les rongeurs afin d'empêcher la propagation du virus de la fièvre de Lassa à l'homme (Lentzos et al., 2022). Ce type d'application soulève des défis supplémentaires en termes de consentement et par rapport au décisionnaire de leur libération, compte tenu du potentiel de propagation, y compris de propagation transfrontalière. Des projets de recherche académique travaillent également sur l'utilisation de moustiques pour diffuser des vaccins viraux. Alors que ces « vaccinateurs volants » étaient envisagés pour l'homme (Shinzawa et al., 2022), les problèmes évidents liés à l'impossibilité de contrôler l'exposition pourraient signifier que toute application de ce type se concentrera sur le bétail.

De tels développements illustrent la vaste gamme d'applications en cours de développement et le besoin crucial d'une analyse de l'horizon et d'une évaluation des technologies. Au regard de la grande complexité des virus et du manque de connaissances à leur sujet, ainsi qu'au potentiel de propagation mondiale, il est urgent de procéder à une analyse prospective et à une évaluation des technologies. Cela permettra de s'assurer que de telles applications ne passent pas entre les mailles du filet réglementaire sans une analyse, une évaluation et un débat sociétal approfondis.

Technologies d'interférence ARN

Les technologies d'interférence ARN (ARNi) sont maintenant développées en tant que produits externes pouvant être utilisés dans diverses applications, allant des pulvérisations de pesticides aux additifs pour l'alimentation animale, en passant par les produits de conservation alimentaire après récolte (Heinemann & Walker, 2019). Distinctes des cultures OVM déjà commercialisées qui portent des transgènes codant pour des molécules ARNi, les molécules ARNi synthétiques sont en cours de développement pour une application directe sur les organismes.

L'ARNi est un processus cellulaire naturel qui fonctionne comme un système de régulation génétique pour désactiver (et parfois activer) les gènes dans les cellules. En détournant le processus, les scientifiques peuvent l'activer dans les organismes en utilisant des molécules d'ARN interférentes synthétiques qui sont spécifiques de la séquence d'un gène cible, qui vont ensuite bloquer la traduction d'un gène en une protéine, par exemple une protéine essentielle à la survie, et donc exercer une activité insecticide, dans le cas des pulvérisations de pesticides.

Le processus de l'ARNi n'est que partiellement compris, les développeurs affirmant que les effets de l'ARNi, et les caractéristiques exercées, sont transitoires et ne sont pas transmises à la génération suivante. Cependant, il existe des preuves bien établies que les effets de l'ARNi peuvent effectivement être hérités, par de multiples mécanismes, les concepteurs eux-mêmes déposant des brevets sur la progéniture d'organismes exposés à des produits ARNi. En tant que telle, l'exposition d'organismes, à la fois la cible et tous les organismes non ciblés inconnus, à des pulvérisations foliaires d'ARN a été décrite comme une ingénierie environnementale qui implique, plutôt que la libération d'OVM, la libération d'un produit qui peut produire des OVM lors de l'exposition. Un tel processus n'est pas contrôlé et peut exposer des agroécosystèmes entiers.

Il existe des risques importants et des lacunes dans les connaissances sur cette technologie et ses impacts potentiels sur la biodiversité. L'ARNi est associé à des effets non intentionnels hors cible, c'est-à-dire qu'il peut réduire au silence des gènes autres que la cible, ainsi que des organismes non ciblés, comme cela a déjà été démontré pour les cultures OVM exprimant l'ARNi (Baum et al., 2007). Des lacunes importantes subsistent dans notre capacité à répondre à des questions fondamentales telles que les espèces susceptibles d'être exposées, les séquences de leurs génomes ou la similarité entre les génomes des organismes non ciblés et ceux des organismes cibles. Si l'on sait que certaines espèces d'ARN sont instables, il a été démontré que les ARN double brin (ARNdb) survivent à la digestion par les mammifères et peuvent avoir des effets sur les organismes, y compris les personnes, qui les consomment. De plus, des produits ARNi synthétiques sont en cours de développement ; on cherche à les rendre plus stables et persistants dans l'environnement avec, par exemple, l'utilisation de nanoparticules, afin d'améliorer leur efficacité.

Leur développement suscite une controverse quant à la manière dont ils peuvent être réglementés, les organismes modifiés par les technologies ARNi pouvant être exclus de la définition d'un OVM. Malgré l'absence de réglementation, des produits semblent s'acheminer vers le marché, et incluent notamment des pulvérisations de pesticides, des produits qui confèrent un biais de sexe aux fruits de mer, des additifs pour l'alimentation animale visant les fruits de mer et les agents pathogènes des abeilles. Il est donc urgent de procéder à une analyse prospective et à une évaluation des technologies pour se tenir au courant d'une technologie dont le développement commercial a pris le pas sur toute évaluation des risques potentiels.

Conclusion

Les technologies du génie génétique et leurs applications évoluent rapidement. Elles sont cependant présentées par leurs promoteurs comme sûres, nécessaires ou même comme ne relevant pas des définitions des OVM, comme fut le cas lors de diverses tentatives d'éviter l'examen minutieux nécessaire à la protection contre les risques potentiels pour la biodiversité. Les techniques émergentes telles que l'édition du génome appliquée aux cultures, les technologies de forçage génétique, les virus génétiquement modifiés, les HEGAA et bien d'autres encore, présentent une pléthore de risques et d'effets involontaires, qui sont déjà notoirement reconnus dans les domaines biomédicaux (Burgio & Teboul, 2020; Ledford, 2020; National Academy of Medicine (U.S.) et al., 2020).

Néanmoins, leurs promoteurs ont l'intention de libérer ces technologies dans l'environnement, avec l'intention explicite d'élargir l'échelle et les niveaux d'intervention au-delà des agroécosystèmes, en visant directement les espèces et les écosystèmes sauvages. La réduction de la diversité génétique, même au niveau d'un seul gène, peut avoir des répercussions sur les réseaux alimentaires et les écosystèmes, de sorte que même sans les effets involontaires du processus de génie génétique lui-même, les répercussions de la modification génétique en milieu ouvert sont imprévisibles, avec des effets négatifs potentiels (Barbour et al., 2022). Les modifications génétiques issues de l'activité humaine peuvent contourner les processus d'évolution pour leur établissement et leur propagation dans la nature (Heinemann et al., 2021), soulevant de nouveaux niveaux d'incertitude et de risque. De plus, cela se produira dans le contexte de lacunes fondamentales en matière de connaissances sur la manière dont ces interventions interagissent avec des écosystèmes complexes et sauvages.

Le forçage génétique, l'ARNi et les virus génétiquement modifiés ne sont que quelques exemples des technologies qui se profilent à l'horizon ou qui sont déjà commercialisées. D'autres applications, notamment issues de la biologie synthétique, et de nouvelles technologies génétiques sont en préparation.

Il est impératif qu'il y ait :

- (1) une analyse de l'horizon afin que les régulateurs et les décideurs puissent être au fait de l'évolution de la science, disposer d'informations pertinentes pour l'évaluation et la gestion des risques, et être ainsi préparés de manière adéquate à toutes les technologies à venir ; et

- (2) une évaluation des technologies, afin que ces nouvelles technologies puissent être évaluées de manière rigoureuse, non seulement du point de vue de leurs incidences sur l'environnement et la santé humaine, mais aussi de leurs implications sociales, culturelles et éthiques.

La CDB, en tant que traité juridiquement contraignant quasi universel régissant la biodiversité, doit donc inclure et rendre opérationnels l'analyse prospective et l'évaluation des technologies, notamment dans son cadre mondial pour la biodiversité pour l'après-2020.

Eva Sirinathsinghji est titulaire d'un doctorat en neurogénétique et est une chercheuse en biosécurité ayant une formation en sciences biomédicales. Elle travaille aux côtés des campagnes de la société civile sur les risques des technologies de génie génétique, y compris les nouvelles technologies de génie génétique. **Lim Li Ching** est chercheuse principale au sein du Réseau Tiers-Monde.

Bibliographie

- Ad Hoc Technical Expert Group (AHTEG) on Risk Assessment. (2020). *Ad Hoc Technical Expert Group (AHTEG) on Risk Assessment. 'Report of the Ad Hoc Technical Expert Group on Synthetic Biology'. CBD/CP/RA/AHTEG/2020/1/5 (CBD/CP/RA/AHTEG/2020/1/4; p. 61).*
- Agapito-Tenfen, S. Z., Okoli, A. S., Bernstein, M. J., Wikmark, O.-G., & Myhr, A. I. (2018). Revisiting Risk Governance of GM Plants: The Need to Consider New and Emerging Gene-Editing Techniques. *Frontiers in Plant Science, 9*, 1874. <https://doi.org/10.3389/fpls.2018.01874>
- Barbour, M. A., Kliebenstein, D. J., & Bascompte, J. (2022). A keystone gene underlies the persistence of an experimental food web. *Science, 376*(6588), 70-73. <https://doi.org/10.1126/science.abf2232>
- Baum, J. A., Bogaert, T., Clinton, W., Heck, G. R., Feldmann, P., Ilagan, O., Johnson, S., Plaetinck, G., Munyikwa, T., Pleau, M., Vaughn, T., & Roberts, J. (2007). Control of coleopteran insect pests through RNA interference. *Nat Biotechnol., 25*(11), 1322-1326. doi: 10.1038/nbt1359. Epub 2007 Nov 4. PMID: 17982443.
- Beisel, U., & Boëte, C. (2013). The Flying Public Health Tool: Genetically Modified Mosquitoes and Malaria Control. *Science as Culture, 22*(1), 38-60. <https://doi.org/10.1080/09505431.2013.776364>
- Biswas, S., Tian, J., Li, R., Chen, X., Luo, Z., Chen, M., Zhao, X., Zhang, D., Persson, S., Yuan, Z., & Shi, J. (2020). Investigation of CRISPR/Cas9-induced SD1 rice mutants highlights the importance of molecular characterization in plant molecular breeding. *Journal of Genetics and Genomics, S1673852720300916*. <https://doi.org/10.1016/j.jgg.2020.04.004>
- Brunner, E., Yagi, R., Debrunner, M., Beck-Schneider, D., Burger, A., Escher, E., Mosimann, C., Hausmann, G., & Basler, K. (2019). CRISPR-induced double-strand breaks trigger recombination between homologous chromosome arms. *Life Science Alliance, 2*(3). <https://doi.org/10.26508/lsa.201800267>
- Burgio, G., & Teboul, L. (2020). Anticipating and Identifying Collateral Damage in Genome Editing. *Trends in Genetics: TIG, 36*(12), 905-914. <https://doi.org/10.1016/j.tig.2020.09.011>
- CSS, ENSSER, & VDW. (2019). *Gene Drives. A report on their science, applications, social aspects, ethics and regulations*. CSS, ENSSER, VDW. <https://ensser.org/publications/2019-publications/gene-drives-a-report-on-their-science-applications-social-aspects-ethics-and-regulations/>
- ENSSER. (2021). *Scientific Critique of Leopoldina and EASAC Statements on Genome Edited Plants in the EU*. <https://ensser.org/wp-content/uploads/2021/04/Greens-EFA-GMO-Study-1.pdf>
- GeneWatch UK. (2021). *On-target effects of genome editing techniques: (Un)repaired DNA damage, a hindrance to safety and development?* GeneWatch UK. <http://genewatch.org/uploads/f03c6d66a9b354535738483c1c3d49e4/genome-editing-techniques-fin.pdf>
- Greiter, A., Eckerstorfer, M. F., Miklau, M., Heissenberger, A., Engelhard, M., & Simon, S. (2022). *Synthetic Biology. Scan the Horizon for Impacts on Biodiversity*.
- Heinemann, J. A. (2019). Should dsRNA treatments applied in outdoor environments be regulated? *Environment International, 132*, 104856. <https://doi.org/10.1016/j.envint.2019.05.050>
- Heinemann, J. A., Paull, D. J., Walker, S., & Kurenbach, B. (2021). Differentiated impacts of human interventions on nature: Scaling the conversation on regulation of gene technologies. *Elementa Science of the Anthropocene, 9*(1). <https://doi.org/10.1525/elementa.2021.00086>
- Heinemann, J. A., & Walker, S. (2019). Environmentally applied nucleic acids and proteins for purposes of engineering changes to genes and other genetic material. *Biosafety and Health, 1*(3), 113-123. <https://doi.org/10.1016/j.bshealth.2019.09.003>
- Ihry, R. J., Worringer, K. A., Salick, M. R., Frias, E., Ho, D., Theriault, K., Kommineni, S., Chen, J., Sondey, M., Ye, C., Randhawa, R., Kulkarni, T., Yang, Z., McAllister, G., Russ, C., Reece-Hoyes, J., Forrester, W., Hoffman, G. R., Dolmetsch, R., & Kaykas, A. (2018). P53 inhibits CRISPR-Cas9 engineering in human pluripotent stem cells. *Nature Medicine, 24*(7), 939-946. <https://doi.org/10.1038/s41591-018-0050-6>
- James, S. L., Marshall, J. M., Christophides, G. K., Okumu, F. O., & Nolan, T. (2020). Toward the Definition of Efficacy and Safety Criteria for Advancing Gene Drive-Modified Mosquitoes to Field Testing. *Vector-Borne and Zoonotic Diseases, 20*(4), 237-251. <https://doi.org/10.1089/vbz.2019.2606>
- Kawall, K. (2019). New Possibilities on the Horizon: Genome Editing Makes the Whole Genome Accessible for Changes. *Frontiers in Plant Science, 10*, 525. <https://doi.org/10.3389/fpls.2019.00525>
- Kranthi, K. R., & Stone, G. D. (2020). Long-term impacts of Bt cotton in India. *Nature Plants, 6*(3), 188-196. <https://doi.org/10.1038/s41477-020-0615-5>
- Ledford, H. (2020). CRISPR gene editing in human embryos wreaks chromosomal mayhem. *Nature, 583*(7814), 17-18. <https://doi.org/10.1038/d41586-020-01906-4>
- Lentzos, F., Rybicki, E. P., Engelhard, M., Paterson, P., Sandholtz, W. A., & Reeves, R. G. (2022). Eroding norms over release of self-spreading viruses. *Science, 375*(6576), 31-33. <https://doi.org/10.1126/science.abj5593>

- Lim, L. C., & Traavik, T. (Eds.). (2007). *Biosafety first: Holistic approaches to risk and uncertainty in genetic engineering and genetically modified organisms*. Tapir Academic Press.
- Luna, J. K., & Dowd-Urbe, B. (2020). Knowledge politics and the Bt cotton success narrative in Burkina Faso. *World Development*, 136, 105127. <https://doi.org/10.1016/j.worlddev.2020.105127>
- National Academy of Medicine (U.S.), National Academy of Sciences (U.S.), & Royal Society (Great Britain) (Eds.). (2020). *Heritable human genome editing*. The National Academies Press.
- Norris, A. L., Lee, S. S., Greenlees, K. J., Tadesse, D. A., Miller, M. F., & Lombardi, H. A. (2020). Template plasmid integration in germline genome-edited cattle. *Nature Biotechnology*, 38(2), 163-164. <https://doi.org/10.1038/s41587-019-0394-6>
- Ono, R., Yasuhiko, Y., Aisaki, K., Kitajima, S., Kanno, J., & Hirabayashi, Y. (2019). Exosome-mediated horizontal gene transfer occurs in double-strand break repair during genome editing. *Communications Biology*, 2(1), 57. <https://doi.org/10.1038/s42003-019-0300-2>
- Reeves, R. G., Voeneky, S., Caetano-Anollés, D., Beck, F., & Boëte, C. (2018). Agricultural research, or a new bioweapon system? *Science*, 362(6410), 35-37. <https://doi.org/10.1126/science.aat7664>
- Shinzawa, N., Kashima, C., Aonuma, H., Takahashi, K., Shimojima, M., Fukumoto, S., Saiki, E., Yamamoto, D. S., Yoshida, S., Matsuoka, H., Kawaoka, Y., & Kanuka, H. (2022). Generation of Transgenic Mosquitoes Harboring a Replication-Restricted Virus. *Frontiers in Tropical Diseases*, 3, 850111. <https://doi.org/10.3389/ftd.2022.850111>
- Simon, S., Otto, M., & Engelhard, M. (2018). Synthetic gene drive: Between continuity and novelty: Crucial differences between gene drive and genetically modified organisms require an adapted risk assessment for their use. *EMBO Reports*, 19(5). <https://doi.org/10.15252/embr.201845760>
- Sirinathsinghji, E. (2019). *Transferring the laboratory to the wild: An emerging era of environmental genetic engineering*. Third World Network. https://biosafety-info.net/wp-content/uploads/2019/11/Biosafety-briefing_From-lab-to-wild.pdf
- Sirinathsinghji, E. (2020). *Risk Assessment Challenges of Synthetic Gene Drive Organisms*. <https://biosafety-info.net/articles/assessment-impacts/risk-assessment/risk-assessment-challenges-of-synthetic-gene-drive-organisms/>
- Skryabin, B. V., Kummerfeld, D.-M., Gubar, L., Seeger, B., Kaiser, H., Stegemann, A., Roth, J., Meuth, S. G., Pavenstädt, H., Sherwood, J., Pap, T., Wedlich-Söldner, R., Sunderkötter, C., Schwartz, Y. B., Brosius, J., & Rozhdestvensky, T. S. (2020). Pervasive head-to-tail insertions of DNA templates mask desired CRISPR-Cas9-mediated genome editing events. *Science Advances*, 6(7), eaax2941. <https://doi.org/10.1126/sciadv.aax2941>
- Tuladhar, R., Yeu, Y., Tyler Piazza, J., Tan, Z., Clemenceau, J. R., Wu, X., Barrett, Q., Herbert, J., Mathews, D. H., Kim, J., Hwang, T. H., & Lum, L. (2019). CRISPR-Cas9-based mutagenesis frequently provokes on-target mRNA misregulation. *Nature Communications*, 10(1), 4056. <https://doi.org/10.1038/s41467-019-12028-5>
- Wilson, A. K. (2021). Will gene-edited and other GM crops fail sustainable food systems? In *Rethinking Food and Agriculture* (pp. 247-284). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-816410-5.00013-X>
- Xu, X.-R. S., Bulger, E. A., Gantz, V. M., Klansack, C., Heimler, S. R., Auradkar, A., Bennett, J. B., Miller, L. A., Leahy, S., Juste, S. S., Buchman, A., Akbari, O. S., Marshall, J. M., & Bier, E. (2020). Active Genetic Neutralizing Elements for Halting or Deleting Gene Drives. *Molecular Cell*, 80(2), 246-262.e4. <https://doi.org/10.1016/j.molcel.2020.09.003>
- Zhang, Q., Xing, H.-L., Wang, Z.-P., Zhang, H.-Y., Yang, F., Wang, X.-C., & Chen, Q.-J. (2018). Potential high-frequency off-target mutagenesis induced by CRISPR/Cas9 in *Arabidopsis* and its prevention. *Plant Molecular Biology*, 96(4-5), 445-456. <https://doi.org/10.1007/s11103-018-0709-x>