

Génétique et amélioration d'*Artemisia annua* L. pour une production durable d'antipaludiques à base d'artémisinine

Vincent Segura

L'artémisinine : une molécule efficace dans le traitement du paludisme

Le paludisme est un fléau majeur qui tue plus d'un million de personnes par an dans le monde. Le parasite responsable de cette maladie, *Plasmodium falciparum*, ayant développé des résistances envers la plupart des médicaments traditionnellement utilisés comme la chloroquine, les associations médicamenteuses comportant de l'artémisinine (ACT, *Artemisinin combination therapies*) sont actuellement considérées comme les seuls traitements efficaces par l'Organisation mondiale de la santé (OMS) [1]. Elles sont toujours préconisées malgré l'identification récente au Cambodge d'une résistance du parasite vis-à-vis de l'artémisinine [2]. L'artémisinine est naturellement produite par l'espèce *Artemisia annua* L. de la famille des Astéracées. Malgré l'utilisation depuis des millénaires en médecine traditionnelle chinoise de cette plante sous forme d'extraits, l'identification de l'artémisinine comme principe actif remonte seulement à une trentaine

d'années. Il s'agit d'un sesquiterpène synthétisé au sein de groupes de cellules spécialisées, les trichomes glandulaires, situés principalement sur les feuilles d'*Artemisia annua* (Figure 1) [3]. Cependant, la molécule demeure très coûteuse car les plantes utilisées pour la production d'artémisinine présentent de très faibles rendements. En effet, la découverte relativement récente de l'intérêt d'*Artemisia annua* dans la lutte contre le paludisme explique que peu d'améliorations aient été apportées, les graines étant généralement récoltées par les fermiers de façon empirique à partir de plantes sauvages. Une alternative, en cours de développement, serait la production d'artémisinine par des bactéries transgéniques [4] qui devrait permettre d'augmenter significativement le nombre d'ACT. Toutefois, la demande est telle que la production agricole d'*Artemisia annua* s'avère aussi être indispensable. Dans cette optique, l'amélioration génétique de cette espèce constitue une voie prometteuse pour augmenter le rendement en artémisinine, compte tenu

Centre for novel agricultural products,
Department of biology, University of York,
York YO10 5YW, Royaume-Uni.
Adresse actuelle : UR 588, Amélioration
génétique et physiologie forestières,
INRA Orléans,
2163, avenue de la Pomme de pin,
CS 40001 Ardon,
45075 Orléans Cedex 2, France.
segura@orleans.inra.fr

des progrès généralement réalisés sur les espèces végétales lors de leur domestication [5]. C'est l'objectif principal du projet « Artemisia » subventionné par la fondation Bill et Melinda Gates et développé depuis 2006 par le centre pour les nouveaux produits agricoles de l'Université de York au Royaume-Uni [6]. Une publication récente dans la revue *Science* fait état des principales avancées de ce projet qui permettent d'envisager une production significativement plus importante d'artémisinine dans un futur proche [7]. La stratégie mise en œuvre, les principaux résultats de cette publication ainsi que leur importance pour la lutte contre le paludisme sont développés ci-dessous.

« Artemisia » : un projet d'amélioration génétique d'*Artemisia annua*

Sélection génétique basée sur l'acquisition de caractères

Le moteur du progrès génétique étant la variabilité, la stratégie développée



Figure 1. Localisation de l'artémisinine au sein de la plante *Artemisia annua* L. L'artémisinine est une molécule synthétisée dans les trichomes glandulaires situés majoritairement sur les feuilles d'*Artemisia annua*.



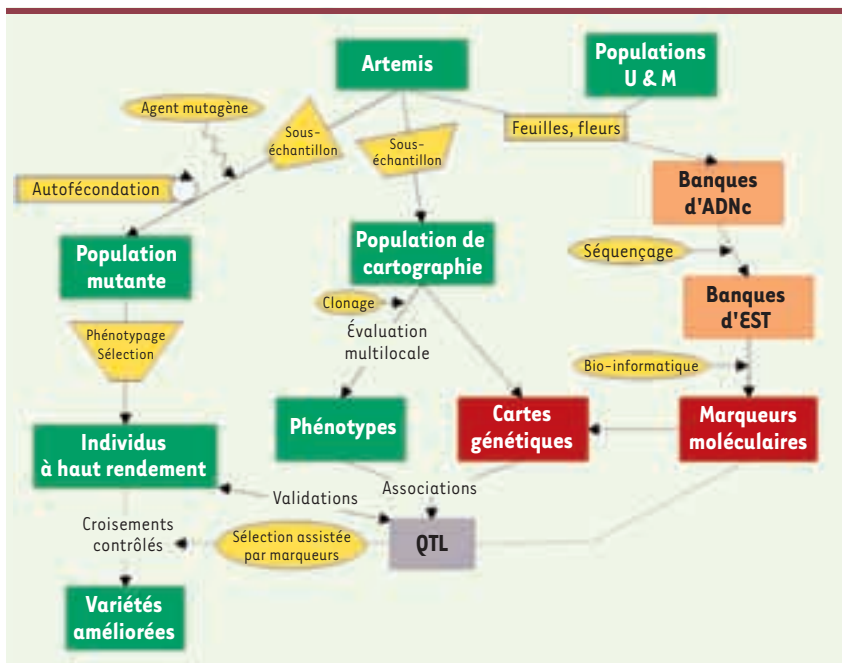


Figure 2. Schéma de la stratégie mise en œuvre par le projet « Artemisia » pour la création de variétés à haut rendement en artemisinine. ADNc : ADN complémentaire ; EST : *expressed sequence tag* ; QTL : *quantitative trait loci*.

et d'autre part qu'ils n'étaient pas tous corrélés. Cela démontre qu'il est possible d'améliorer le rendement global en artemisinine en ciblant la sélection sur ces caractères cibles. Cependant, la sélection génétique basée sur l'acquisition de caractères demeure coûteuse et relativement longue puisqu'elle requiert l'évaluation de nombreuses plantes dans de multiples dispositifs expérimentaux.

Confrontations des données phénotypiques aux cartes génétiques

L'utilisation de marqueurs moléculaires pour la sélection permet en partie de pallier ces contraintes *via* l'évaluation indirecte de plantes en laboratoire. Pour cela, il est nécessaire au préalable d'identifier des marqueurs permettant de prédire la valeur des caractères cibles parce qu'ils sont localisés à proximité des régions génomiques impliquées dans leur variation (QTL, *quantitative trait loci*). Nous avons donc confronté les données phénotypiques aux cartes génétiques, et des QTL stables en fonction de l'environnement ont été identifiés, qui sont prédictifs de la masse fraîche des plantes, de la surface foliaire, de l'architecture des plantes et de la concentration en artemisinine dans les feuilles. Un de ces QTL, corrélé à la concentration en artemisinine, a par ailleurs pu être validé dans la population mutante. En effet, l'analyse de la ségrégation de marqueurs moléculaires chez des individus mutants sélectionnés pour leur rendement en artemisinine a révélé une très forte distorsion en faveur de l'allèle agissant positivement sur la concentration en artemisinine dans la région génomique de ce QTL. Cette validation démontre que le phénotypage a permis de sélectionner de façon efficace des individus à rendement élevé

par le projet « Artemisia » a consisté à s'appuyer conjointement sur la variabilité naturelle et la variabilité induite par mutagenèse pour identifier des plantes à rendement élevé en artemisinine afin de créer de nouvelles variétés (Figure 2). L'espèce *Artemisia annua* se reproduit majoritairement par fécondation croisée. Les individus qui la composent sont généralement très hétérozygotes, ce qui explique la grande variabilité des populations issues de leurs croisements. C'est le cas de la variété Artemis, l'hybride F1 qui a actuellement le meilleur rendement et est développé par Mediplant (Conthey, Suisse). Celle-ci a logiquement constitué la population de départ pour le projet Artemisia : à partir de cette variété ont été établies d'une part une population mutante obtenue par traitement chimique et autofécondation, et d'autre part une population de cartographie génétique comprenant 242 génotypes. Afin de développer des outils moléculaires, des feuilles et fleurs d'Artemis, ainsi que des plantes provenant de populations traditionnellement cultivées en Afrique et en Asie du Sud-Est (populations M et U), ont été collectées pour construire des banques d'ADN

complémentaire (ADNc). Des séquences de type EST (*expressed sequence tag*) ont été produites à partir de ces banques par pyroséquençage et leur analyse bio-informatique (alignements et comparaisons) a permis d'identifier plus de 100 000 polymorphismes de séquences. À partir de ces polymorphismes, près de 800 marqueurs moléculaires ont été sélectionnés. L'analyse de leur ségrégation dans la population de cartographie a permis d'établir les deux premières cartes génétiques de l'espèce *Artemisia annua*, chacune correspondant aux parents d'Artemis. La population de cartographie a également fait l'objet d'une évaluation phénotypique dans différents environnements afin d'analyser la variabilité génétique de caractères pouvant avoir un impact sur le rendement final en artemisinine. Les caractères ciblés étaient la croissance et l'architecture de la plante, la morphologie foliaire, la densité de trichomes sur les feuilles et la concentration en artemisinine dans les feuilles. L'analyse des données a montré d'une part que ces caractères étaient transmissibles héréditairement, c'est-à-dire qu'une part relativement importante de leur variation est d'origine génétique,



mais aussi et surtout que les marqueurs moléculaires témoignent de cette sélection et sont de fait des outils puissants pour identifier des individus élites.

Afin de créer de nouvelles variétés, un plan de croisements entre les individus à haut rendement en artémisinine précédemment identifiés a d'ores et déjà été mis en œuvre. Parmi les descendances issues de ces croisements, certaines présentent des rendements en artémisinine 30 à 60 % plus élevés que celui d'Artemis. D'autres croisements en cours d'établissement pourront aussi bénéficier des outils moléculaires développés dans cette étude pour l'identification de descendances encore plus performantes.

Les descendances ainsi sélectionnées feront ensuite l'objet d'évaluations dans les futures zones de production (Afrique et Asie) afin de confirmer leur haut rendement dans ces conditions climatiques particulières et ainsi de fournir de nouvelles variétés à l'horizon 2011. Celles-ci seront exploitées directement dans les zones touchées par le paludisme où elles permettront une production accrue d'artémisinine. ♦

Genetic and breeding of *Artemisia annua* L. for a sustainable production of the antimalarial drug artemisinin

CONFLIT D'INTÉRÊTS

L'auteur déclare n'avoir aucun conflit d'intérêts concernant les données publiées dans cet article.

RÉFÉRENCES

1. World Malaria Report 2008, World Health Organisation. <http://apps.who.int/malaria/wmr2008/malaria2008.pdf>
2. Dondorp AM, Nosten F, Poravuth Y, et al. Artemisinin resistance in *Plasmodium falciparum* malaria. *N Engl J Med* 2009; 361 : 455-67.
3. Covello PS, Teoh KH, Polichuk DR, et al. Functional genomics and the biosynthesis of artemisinin. *Phytochemistry* 2007; 68 : 1864-71.
4. Ro DK, Paradise EM, Ouellet M, et al. Production of the antimalarial drug precursor artemisinic acid in engineered yeast. *Nature* 2006; 440 : 940-3.
5. Doebley JF, Gaut BS, Smith BD. The molecular genetics of crop domestication. *Cell* 2006; 127 : 1309-21.
6. <http://www.york.ac.uk/org/cnap/artemisiaproject/>
7. Graham IA, Besser K, Blumer S, et al. The genetic map of *Artemisia annua* L. identifies loci affecting yield of the antimalarial drug artemisinin. *Science* 2010; 327 : 328-31.

NOUVELLE

Nedd4/PTEN : un couple très branché !

Laure Stochlic

CNRS UMR 8194 - CEsEM (Centre d'étude de la sensorimotricité), Université Paris Descartes, 45, rue des Saints-Pères, 75270 Paris Cedex 06, France. laure.stochlic@inserm.fr

> Le système nerveux humain adulte se compose d'environ 100 milliards de neurones, chacun se connectant à plus de 1 000 cibles cellulaires générant ainsi un circuit très complexe. L'établissement de la connectivité neuronale au cours de l'embryogenèse représente une étape fondamentale pour le bon fonctionnement du système nerveux et s'effectue de manière hautement spécifique. Le développement de ces connexions implique l'extension des neurites vers leurs cibles synaptiques et la formation de branchements axonaux permettant la construction de réseaux neuronaux.

L'arborisation des axones et des dendrites

Le processus qui guide les axones vers leur destination finale fait intervenir des molécules de signalisation présentes dans l'environnement qui jouent un rôle

répulsif ou attractif détecté par le cône de croissance, structure motile à l'extrémité de l'axone [1]. Une fois la cible atteinte, l'axone perd son cône de croissance et acquiert une structure terminale branchée dans laquelle vont se former les contacts synaptiques. L'arborisation des axones et des dendrites, qui contrôle à la fois le nombre de partenaires cellulaires établis par un neurone et le nombre de connexions synaptiques avec chaque cible, est une étape déterminante dans le développement des circuits neuronaux [2]. Ce processus est contrôlé par des mécanismes à la fois extrinsèques et intrinsèques. En effet, comme c'était le cas dans le guidage des axones, des molécules de signalisation extracellulaires fournissent des informations spatiales nécessaires au branchement et induisent l'activation de programmes transcriptionnels spécifiques à un type

de cellule et qui contrôlent la structure du branchement. De plus, plusieurs mécanismes de transduction du signal relient les signaux extracellulaires à des voies de signalisation aboutissant au remaniement du cytosquelette impliqué dans la formation du branchement [2].

Importance de la dégradation de protéines ubiquitinylées dans le développement neuronal

Au cours de ces dix dernières années, il est apparu que l'un des mécanismes utilisés pour réguler le développement des circuits neuronaux est la dégradation des protéines par la voie ubiquitine/protéasome (UPS) [3, 13]. Ce mécanisme fait intervenir le marquage des protéines destinées à la dégradation par des chaînes de poly-ubiquitine grâce à l'action concertée de plusieurs enzymes telles que l'enzyme d'activation