

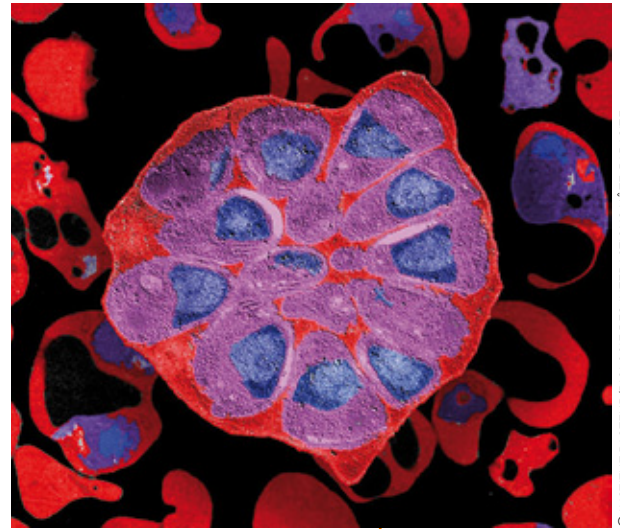
PALUDISME

Un outil génétique de décryptage

Dans la lutte contre le paludisme, des chercheurs de l'Institut Pasteur viennent de mettre au point une nouvelle technique d'ingénierie moléculaire. Elle a déjà confirmé l'existence d'une mutation génétique responsable de la résistance aux antibiotiques du parasite vecteur de la maladie. Et d'autres avancées majeures devraient prochainement voir le jour.

Un grand pas est franchi dans le combat contre le paludisme ! José-Juan Lopez Rubio (☞), chargé de recherche Inserm, et ses confrères de l'Institut Pasteur à Paris, viennent d'ouvrir la voie à une nouvelle ère dans la lutte contre *Plasmodium falciparum*, vecteur de la maladie qui tue chaque année 660 000 personnes à travers le monde. Ils lui ont, en effet, adapté un outil d'ingénierie moléculaire pré-existant qui permet de modifier n'importe quel gène, n'importe où dans un génome. La compréhension de la biologie de ce parasite va donc pouvoir s'accélérer. Cet outil, nommé CRISPR-Cas, est composé d'une séquence d'ARN - CRISPR pour *Clustered Regularly Interspaced Short Palindromic Repeat* (☞) - et d'une enzyme - Cas pour *CRISPR associated*. Alors que CRISPR s'accroche à une séquence d'ADN qu'elle reconnaît dans un génome, Cas découpe l'ADN à ce niveau. Ce complexe existe à l'état naturel chez les bactéries qui s'en servent comme système immunitaire, en détruisant le génome des envahisseurs. Mais en 2013, plusieurs équipes de recherche ont réussi à l'adapter pour en faire un outil de modification de gènes, marquant ainsi « une révolution dans le monde de la biologie moléculaire », selon José-Juan Lopez Rubio. Car en manipulant la séquence d'ARN qui sert d'accroche, il est possible de choisir exactement l'endroit à cliver. Mais, avant que le brin d'ADN ne se répare spontanément, il est aussi possible de provoquer une substitution de nucléotides (☞) et ainsi de modifier le génotype de façon définitive.

C'est cette nouvelle technique que les chercheurs de l'Institut Pasteur ont adaptée au *P. falciparum*. Objectif : déterminer le rôle de certains gènes du parasite pour mieux connaître ce dernier. « La recherche entre dans une nouvelle ère, s'enthousiasme le parasitologue. *Que de temps gagné ! Jusqu'à présent, nous en passions plus à mettre au point les outils d'études qu'à les utiliser.* » En effet, il suffit d'une vingtaine de jours pour adapter l'outil à une séquence ADN voulue et obtenir les premiers résultats, contre plusieurs mois avec



© INSTITUT PASTEUR/BIOLOGIE DES INTERACTIONS HÔTE-PARASITE

les méthodes précédentes qui, en plus d'être onéreuses, manquaient de flexibilité et de précision. De quoi susciter un réel engouement dans le monde de la recherche : près de cinquante laboratoires à travers le monde ont d'ailleurs contacté José-Juan Lopez Rubio afin d'obtenir les réactifs nécessaires pour cet outil depuis la publication de ses travaux.

La méthode CRISPR-Cas a, d'ores et déjà, permis de découvrir les mécanismes qui fournissent au parasite une

résistance à l'artémisinine, le principal antipaludique. Depuis 2009, en effet, des cas ont été rapportés dans le bassin du Mékong, dans le sud-est de l'Asie.

Début 2014, une autre équipe de l'Institut Pasteur, menée par Odile Puijalon, avait observé que cette résistance était due à une mutation. Mais la preuve du lien de causalité n'avait pas été apportée. C'est maintenant chose faite, puisque les scientifiques de l'équipe de José-Juan Lopez Rubio ont utilisé cette nouvelle technique d'ingénierie moléculaire pour concevoir un système CRISPR-Cas provoquant artificiellement la mutation en question. Et ils ont ainsi observé que les parasites mutés étaient systématiquement résistants à l'artémisinine, validant par là-même la robustesse de la méthode CRISPR-Cas. Grâce à cela, il sera désormais possible de vérifier si les malades ne réagissant pas au traitement sont infectés par une souche résistante. Pour les auteurs de l'étude, l'objectif est maintenant d'explorer le génome du parasite dans ses moindres détails afin d'anticiper les résistances que ce dernier développera contre les différents traitements. ■ Bruno Scala

Un globule rouge parasité par *Plasmodium falciparum* (en violet, les noyaux en bleu)

☞ CRISPR

Désigne de courtes répétitions de séquences d'ADN regroupées, palindromiques et espacées régulièrement.

☞ Nucléotide

Molécule de base de l'ADN

☞ José-Juan Lopez Rubio : URA 2581 Inserm/Institut Pasteur/CNRS - Université Paris 12 Créteil, Bases génétiques et moléculaires des interactions de la cellule eucaryote

☞ M. Ghorbal et al. *Nature Biotechnology*, 1^{er} juin 2014 (en ligne) doi : 10.1038/nbt.2925