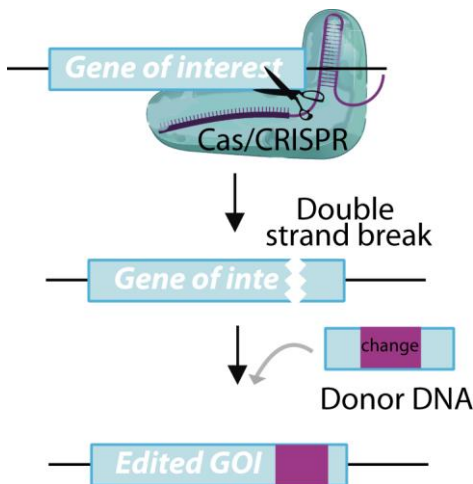


[Genome editing in the human malaria parasite *Plasmodium falciparum* using the CRISPR-Cas9 system.](#)

Ghorbal M, Gorman M, Macpherson CR, Martins RM, Scherf A, Lopez-Rubio JJ.

Nat Biotechnol. 2014 Jun 1. doi: 10.1038/nbt.2925. [Epub ahead of print] PMID: 24880488



Une méthode révolutionnaire pour mieux comprendre la maladie

C'est une grande avancée pour la lutte contre le paludisme. L'équipe de José-Juan Lopez Rubio, à l'Institut Pasteur dans l'unité de Biologie des Interactions Hôte Parasite-CNRS URA2581 (dirigé par Artur Scherf) vient en effet d'ouvrir la voie à une nouvelle ère dans la lutte contre *Plasmodium falciparum*, le plus virulent des protozoaires responsables de la maladie qui tue environ 660 000 personnes chaque année. Pour cela, ces chercheurs ont adapté à ce parasite, une méthode d'ingénierie moléculaire permettant d'insérer des substitutions de bases ADN au sein d'un génome, à n'importe quel endroit voulu. Ce qui va permettre, dès maintenant, d'accélérer considérablement la compréhension de la biologie de ce parasite.

Cette méthode repose sur un outil, nommé CRISPR-Cas, composé d'une séquence d'ARN qui reconnaît une séquence ADN dans un génome (CRISPR) et s'y accroche, et d'un enzyme endonucléase qui découpe les brins d'ADN au site d'accroche (Cas). À l'origine, 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 2012, des chercheurs ont réussi à l'adapter pour en faire un outil de modification de génome, 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 de point d'accrochage, il est possible de couper un génome à n'importe quel endroit souhaité. Le brin d'ADN, après le rupture, se répare, mais il est possible à ce moment-là de provoquer une

substitution de bases ADN et modifier ainsi le génotype de façon définitive. Le tout de façon très rapide : environ 20 jours pour adapter l'outil à une séquence ADN voulue et obtenir les premiers résultats.

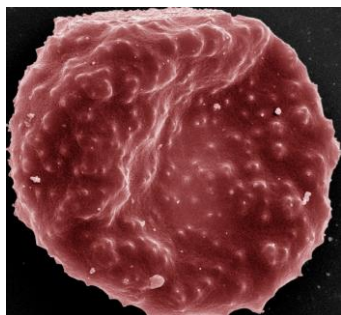
C'est cette méthode que le Dr Lopez-Rubio et ses collègues ont adaptée afin de générer des substitutions ciblées au sein du génome de *P. falciparum*. « Avec cet outil, la recherche sur *P. falciparum* (et probablement d'autres parasites) entre dans une nouvelle ère, s'enthousiasme le parasitologue. Cela va permettre un énorme gain de temps car jusqu'à présent, nous en passions plus à mettre au point des outils pour étudier le parasite qu'à utiliser ces outils ».

Depuis 2009, en effet, des cas de résistance à l'artémisinine, le principal antipaludique, ont été rapportés dans le bassin du Mékong. Début 2014, des chercheurs avaient observé que lorsqu'une certaine mutation s'opérait sur ce gène, le parasite était résistant à l'artémisinine. Mais la preuve irréfutable du lien de causalité n'avait pas été apportée. C'est maintenant chose faite, puisque les scientifiques de l'Institut Pasteur-CNRS ont utilisé leur nouvelle méthode pour concevoir un système CRISPR-Cas provoquant artificiellement la mutation en question. Ils ont observé que les parasites mutés étaient systématiquement résistants à l'artémisinine, validant par là-même la robustesse de cette nouvelle technique d'ingénierie moléculaire.

Exonuclease-mediated degradation of nascent RNA silences genes linked to severe malaria.

Qingfeng Zhang, T. Nicolai Siegel, Rafael M. Martins, FeiWang, Jun Cao, Qi Gao, Xiu Cheng, Lubin Jiang, Chung-Chau Hon, Christine Scheidig-Benatar, Hiroshi Sakamoto, Louise Turner, Anja T. R. Jensen, Aurelie Claes, Julien Guizetti, Nicholas A. Malmquist & Artur Scherf,

Nature, Published online 29 June 2014. doi:10.1038/nature13468



© Institut Pasteur/Artur Scherf-Aurélie Claes
Microscopie électronique d'un globule rouge parasité par *Plasmodium*

Paludisme : l'astuce du parasite pour échapper au système immunitaire

Le *Plasmodium*, parasite responsable du paludisme, infecte les globules rouges. Il y produit des protéines qui se fixent à la surface de la cellule hôte. Ces **protéines**, dites **d'adhésion**, empêchent alors les globules rouges de circuler correctement dans les capillaires sanguins, déclenchant ainsi les symptômes rencontrés dans les cas de paludisme sévère. Le parasite possède 60 gènes codant pour 60 protéines d'adhésion différentes, mais une seule apparaît à la fois à la surface du globule rouge. Il peut ainsi présenter tour à tour les différentes protéines d'adhésion, prenant de vitesse le système immunitaire de l'hôte, censé apprendre à reconnaître, puis détruire les cellules infectées. Les chercheurs de l'équipe d'Artur Scherf (Institut Pasteur, CNRS) sont parvenus à élucider ce mécanisme jusqu'alors inconnu auquel *Plasmodium* a recours pour déjouer à maintes reprises le système immunitaire. En effet, les chercheurs ont montré que c'est une **protéine de type enzyme, la RNase, qui est au cœur du processus** : elle détruit l'ARN messager 'naissant' de gènes codant pour les protéines d'adhésion, ne laissant s'exprimer qu'un seul des 60 types de molécule d'adhésion à la surface de globule rouge infecté. A l'issue de l'infection chez l'homme, le parasite va continuellement exprimer une nouvelle protéine d'adhésion différente, de sorte que les anticorps du système immunitaire n'aient pas le temps d'apprendre à la reconnaître. C'est ce qu'on nomme le processus de variation antigénique. Il s'agit d'un nouveau système de régulation des gènes dont le mécanisme jamais observé jusqu'à présent, est fortement susceptible de se retrouver chez d'autres organismes. Ces travaux publiés dans *Nature*, dimanche 29 juin 2014, contribuent à une meilleure compréhension des mécanismes de virulence mis en œuvre par le parasite. La prochaine étape pour les chercheurs sera de tenter d'expliquer ce qui influence le choix de l'expression de tel ou tel gène à un moment donné. Le but à long terme de l'équipe est de trouver un traitement qui pourrait bloquer ce processus d'échappement au système immunitaire de ce pathogène mortel.