

Outils CRISPR pour étudier et combattre les bactéries pathogènes.

David BIKARD

Institut Pasteur, Paris

Les bactéries subissent les attaques permanentes de bactériophages ou phages, les micro-organismes les plus abondants sur terre. En retour, elles ont développé une impressionnante diversité de systèmes immunitaires pour résister à ces infections. Des enzymes de restriction aux CRISPR, ces systèmes anti-viraux ont une longue histoire d'applications biotechnologiques. Les CRISPR sont le système immunitaire adaptatif des procaryotes. Ils sont capables de mémoriser les infections passées en capturant des fragments d'ADN de phage puis d'utiliser cette mémoire pour détruire les séquences homologues grâce à l'action de nucléases (Cas) guidées par des petits ARN¹. Ces nucléases programmables sont au cœur de nombreuses applications technologiques, y compris pour la modification des génomes et le contrôle de l'expression génétique². Nous avons également montré que guider les nucléases Cas pour couper le chromosome tue les bactéries de manière efficace³. Nous avons utilisé cette propriété pour développer des antibactériens spécifiques capables de cibler les gènes de virulence et de résistance aux antibiotiques⁴. Grâce à cette stratégie il est possible d'éliminer une population de bactérie cible sans affecter le reste du microbiome. Une autre application fascinante des systèmes CRISPR est l'utilisation du mutant catalytique de la protéine Cas9, connu sous le nom de dCas9. Cette protéine guidée par un petit ARN est capable de s'attacher à une séquence d'ADN cible sans la cliver et peu ainsi bloquer l'expression de gènes cibles de manière très efficace⁵. Nous étudions les mécanismes permettant de contrôler ainsi l'expression génétique de manière très fine et développons également des méthodes permettant la réalisation de cibles à haut débits. Ces cibles sont un outil très puissant pour l'étude des génomes.

Références :

1. Marraffini, L. A. CRISPR-Cas immunity in prokaryotes. *Nature* **526**, 55–61 (2015).
2. Barrangou, R. & Doudna, J. A. Applications of CRISPR technologies in research and beyond. *Nat. Biotechnol.* **34**, 933–941 (2016).
3. Jiang, W., Bikard, D., Cox, D., Zhang, F. & Marraffini, L. A. RNA-guided editing of bacterial genomes using CRISPR-Cas systems. *Nat Biotechnol* **31**, 233–239 (2013).
4. Bikard, D. *et al.* Exploiting CRISPR-Cas nucleases to produce sequence-specific antimicrobials. *Nat Biotechnol* **32**, 1146–50 (2014).
5. Bikard, D. *et al.* Programmable repression and activation of bacterial gene expression using an engineered CRISPR-Cas system. *Nucleic Acids Res.* **41**, 7429–7437 (2013).

Mots Clés : CRISPR, Bactérie, Antibiotiques, Biologie de Synthèse.