



modifié en l'absence de tout apport énergétique. Un tel mécanisme d'activation, particulièrement adapté pour un parasite confronté aux changements soudains de son milieu, vaut aussi pour l'activation de l'enzyme qui clive la structure d'ancrage GPI de la VSG en conditions de stress [2].

Conclusion et perspectives

Le rôle des adénylate cyclases à l'interface hôte-parasite explique l'expansion et le polymorphisme de cette famille enzymatique chez les trypanosomes : en multipliant les isoformes, le parasite évite d'être reconnu de façon spécifique et efficace par le système immunitaire de l'hôte. Une telle diversification a déjà été observée pour d'autres enzymes parasitaires exposées au système immunitaire : par exemple les trans-sialidases de *T. cruzi* ou les kinases de *Toxoplasma* [5, 6].

Enfin, la fonction des adénylates cyclases, qui cible les cellules infectées de l'hôte plutôt qu'une fonction du parasite lui-même explique, d'une part, les échecs des tentatives d'identification des ligands capables d'activer ces enzymes, et d'autre part, l'absence de voie de signalisation intracellulaire dépendant de l'AMPc chez ces parasites. En matière de lutte contre ce parasite, bien qu'il soit difficile dans l'immédiat d'identifier des perspectives concrètes, la conception de stratégies empêchant la dimérisation des adénylates cyclases et, ainsi, bloquant les étapes initiales de colonisation de l'hôte par le parasite pourrait se révéler prometteuse. ♦

African trypanosomes have the sense of sacrifice

LIENS D'INTÉRÊT

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

RÉFÉRENCES

1. Pays E, Vanhamme L, Pérez-Morga D. Antigenic variation in *Trypanosoma brucei* : facts, challenges and mysteries. *Curr Opin Microbiol* 2004 ; 4 : 369-74.
2. Rolin S, Hanocq-Quertier J, Paturiaux-Hanocq F, et al. Simultaneous but independent activation of adénylate cyclase and glycosylphosphatidylinositol-phospholipase C under stress conditions in *Trypanosoma brucei*. *J Biol Chem* 1996 ; 271 : 10844-52.
3. Salmon D, Vanwalleghem G, Morias Y, et al. Adénylate cyclases of *Trypanosoma brucei* inhibit the innate immune response of the host. *Science* 2012 ; 337 : 463-6.
4. McDonough KA, Rodriguez A. The myriad roles of cyclic AMP in microbial pathogens : from signal to sword. *Nat Rev Microbiol* 2012 ; 10 : 27-38.
5. Ratier L, Urrutia M, Paris G, et al. Relevance of the diversity among members of the *Trypanosoma cruzi* trans-sialidase family analyzed with camelids single-domain antibodies. *PLoS One* 2008 ; 3 : e3524.
6. Saeij JPJ, Boyle JP, Collier S, et al. Polymorphic secreted kinases are key virulence factors in Toxoplasmosis. *Science* 2006 ; 314 : 1780-3.

NOUVELLE

Une micropuce de diagnostic hybride pour la détection d'ARN non codants

Konstantinia Skreka¹, Mathieu Rederstorff^{1,2}

¹Innsbruck biocenter, département de génomique et RNomique, faculté de médecine, Innrain, 6020 Innsbruck, Autriche ;

²Université de Lorraine, Biopôle, CNRS UMR 7214 AREMS (ARN-RNP, structure-fonction-maturation, enzymologie moléculaire et structurale), 9, avenue de la forêt de Haye, Vandœuvre-lès-Nancy, 54506, France. mathieu.rederstorff@maem.uhp-nancy.fr

► Malgré l'importance majeure des ARN messagers (ARNm), les transcriptomes eucaryotes sont essentiellement constitués d'ARN non messagers ou ARN non codants (ARNnc) pour des protéines. Ces derniers sont impliqués dans des processus biologiques variés mettant en jeu des mécanismes moléculaires et cellulaires multiples. Récemment, les ARNnc ont même été décrits comme d'excellents marqueurs diagnostiques pour de nombreuses pathologies, notamment en cancérologie [1].

Séquençage à haut débit ou micropuces : le débat fait rage

Pour la réalisation d'une analyse transcriptomique, les approches basées sur

le séquençage à haut débit tendent à remplacer progressivement les approches basées sur l'utilisation de micropuces. En effet, ces dernières nécessitent la connaissance *a priori* des séquences à étudier. Elles sont opaques à l'identification de nouvelles molécules, telles que des nouveaux variants issus de l'épissage alternatif d'un préARNm ou des nouveaux petits ARNnc, contrairement aux approches par séquençage dites « ouvertes ». Les approches par séquençage sont, en revanche, encore peu utilisées en diagnostic [2, 3]. Récemment, plusieurs études ont été entreprises avec comme objectif la comparaison

de l'efficacité, de la sensibilité et de la reproductibilité de ces deux approches majeures de transcriptomique. L'analyse d'échantillons biologiques ou d'une population synthétique contrôlée d'ARN a permis de comparer les résultats obtenus par séquençage ou micropuce. Bien que les deux approches apparaissent très reproductibles et spécifiques, les approches basées sur l'utilisation de puces demeurent sensiblement plus précises en termes de quantification absolue d'espèces très peu abondantes [4, 5].

Malheureusement, les conditions optimisées d'analyse par micropuce d'ARNm ne peuvent pas s'appliquer à l'étude des

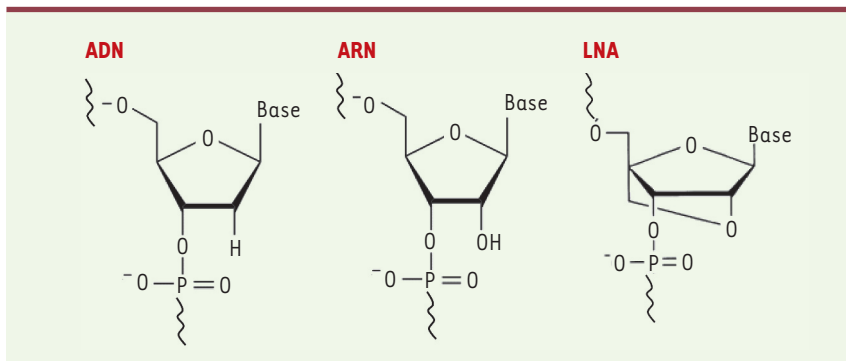


Figure 1. Structure de nucléotides de type ADN, ARN et LNA. Un nucléotide LNA (*locked nucleic acids*) est un analogue synthétique stable d'ARN, dont la conformation 3'endo est stabilisée par un pont méthylène entre l'atome d'oxygène en position 2' et l'atome de carbone 4'. De ce fait, la température de fusion d'un oligonucléotide comportant des résidus LNA dans sa séquence sera bien plus élevée que celle d'un oligonucléotide ADN ou ARN de séquence identique.

ARNnc. En effet, la très grande hétérogénéité de ces derniers en termes de taille, d'abondance et de structures secondaires rend leur étude par ce type d'approches particulièrement complexe, en raison de l'impossibilité de produire des sondes adaptées à l'ensemble des molécules. D'autre part, les gradients de température utilisés pour permettre l'hybridation, dans un premier temps des plus grands ARN sur leurs sondes, puis ensuite celle des plus petits ARN, occasionnent de nombreuses hybridations non spécifiques et un bruit de fond parfois très important [6].

Les puces dédiées à l'analyse des seuls microARN (miARN) sont en revanche utilisées en routine dans de nombreux laboratoires. Ces puces sont généralement composées d'oligonucléotides de type LNA (*locked nucleic acids*) (Figure 1), qui correspondent à des analogues d'ARN thermostables présentant une affinité extrême pour leurs acides nucléiques complémentaires. Ainsi, l'utilisation d'oligonucléotides compo-

tant des résidus de type LNA dans leur séquence permet d'obtenir, même pour des tailles réduites, des températures de fusion et d'hybridation spécifique élevées.

Pour l'étude des miARN, des collections d'oligonucléotides LNA, prêtes à être fixées sur puces ou déjà associées à leur support, sont disponibles dans le commerce et offrent une spécificité d'hybridation et de discrimination importante des miARN, malgré la taille réduite des séquences utilisées. L'utilisation de micropuces entièrement basées sur ce type de technologie LNA n'est toutefois pas envisageable pour des approches de grande envergure en raison de leur coût prohibitif. À l'inverse, les puces à ADN, qui sont plus accessibles financièrement, ne présentent pas quant à elles la sensibilité indispensable à la détection spécifique de très petites séquences. Ainsi, il n'existe pas d'approche globale permettant l'analyse simultanée d'un transcriptome non codant très hétérogène de nature.

Une micropuce hybride pour l'analyse simultanée d'une population hétérogène d'ARN

Pour palier ces difficultés, nous avons développé une approche innovante consistant à combiner sur les micropuces des oligonucléotides courts de type LNA et des oligonucléotides classiques ADN plus longs, dédiés respectivement à l'hybridation (dans les mêmes conditions expérimentales, notamment de température) de très petits ARN (miARN) et d'ARNnc plus longs et plus structurés (Figure 2) [7]. La seule contrainte de cette approche consiste ainsi à générer des oligonucléotides (LNA et DNA) présentant des températures de fusion identiques, de façon à pouvoir les utiliser au cours de la même expérience.

Pour valider notre méthode, nous avons utilisé la puce hybride pour l'analyse simultanée de miARN et de longs ARNnc structurés (ARN de transfert [ARNt], petits ARN nucléolaires [snoARN]) à partir d'ARN total de cerveau murin. Puis, nous avons testé le système pour analyser l'expression différentielle de différents ARNnc entre des cellules souches embryonnaires de souris et des cellules neuronales murines différenciées. La méthode a permis de confirmer l'expression différentielle de miARN entre les cellules souches embryonnaires et les cellules de cerveau adulte (comme décrit dans la littérature), mais également de détecter celle de snoARN. C'est une observation intéressante parce qu'elle suggère l'implication possible de ces snoARN

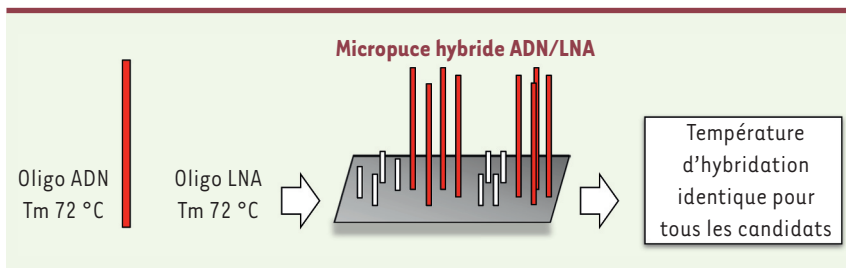


Figure 2. Principe de la puce hybride ADN/LNA. L'utilisation combinée sur le support d'oligonucléotides longs, de structure ADN, et d'oligonucléotides plus courts, de structure LNA, présentant la même température de fusion, permet l'analyse simultanée d'une population très hétérogène d'ARNnc [7]. Tm : température moyenne.



dans les processus de différenciation cellulaire. Les données obtenues avec la puce hybride ont ensuite été validées par *northern-blotting* et RT-PCR (*reverse-transcriptase polymerase chain reaction*) quantitative.

L'incorporation progressive de marqueurs correspondant à des ARNc dans les outils diagnostiques en clinique devrait permettre d'affiner le pronostic et l'évolution de nombreuses pathologies. Plus le nombre de biomarqueurs identifiés de ce type sera important, plus les diagnostics gagneront en précision. Ce type d'analyse pourrait, à terme, être réalisé en ayant recours à des puces hybrides ADN/LNA, permettant aussi bien l'analyse de très grands ARN structurés (ARN BC200 et

maladie d'Alzheimer) que de très petits ARN (miARN et cancer), simultanément et à un moindre coût, ce d'autant que les quantités de matériel nécessaires pour ce type d'approche sont compatibles avec les références actuelles en diagnostic clinique. ♦

A hybrid microarray for the analysis of a miscellaneous ncRNA population

LIENS D'INTÉRÊT

Les auteurs déclarent n'avoir aucun lien d'intérêt concernant les données publiées dans cet article.

RÉFÉRENCES

1. Rederstorff M. Une approche originale de sélection de nouveaux ARN non codants. *Med Sci (Paris)* 2011 ; 27 : 343-5.
2. Jordan B. Chroniques génomiques : séquençage de nouvelle génération : déjà en clinique ? *Med Sci (Paris)* 2011 ; 27 : 1127-30.

3. Jordan B. Is there a niche for DNA microarrays in molecular diagnostics? *Expert Rev Mol Diagn* 2010 ; 10 : 875-82.
4. Marioni JC, Mason CE, Mane SM, et al. RNA-seq: an assessment of technical reproducibility and comparison with gene expression arrays. *Genome Res* 2008 ; 18 : 1509-17.
5. Willenbrock H, Salomon J, Sokilde R, et al. Quantitative miRNA expression analysis: comparing microarrays with next-generation sequencing. *RNA* 2009 ; 15 : 2028-34.
6. Hutzinger R, Mrazek J, Vorwerk S, Huttenhofer A. ncRNA-microchip analysis: A novel approach to identify differential expression of noncoding RNAs. *RNA Biol* 2010 ; 7 : 586-95.
7. Skreka K, Zywicki M, Karbiener M, et al. Expression profiling of a heterogeneous population of ncRNAs employing a mixed DNA/LNA microarray. *J Nucleic Acids* 2012 ; 2012 : 283560.

NOUVELLE

L'orthographe à la portée des babouins

Marie Montant, Jonathan Grainger, Stéphane Dufau, Johannes C. Ziegler, Joël Fagot



Laboratoire de psychologie cognitive, CNRS et Aix-Marseille Université, 3, place Victor Hugo, 13331 Marseille Cedex 3, France. marie.montant@univ-amu.fr

> Depuis qu'*Homo sapiens* est un sujet d'étude scientifique, une question revient périodiquement sur le devant de la scène : notre espèce est-elle unique ? Et si oui, sur quel plan ? Plusieurs caractéristiques sont en général débattues, parmi lesquelles la bipédie, la taille de l'encéphale, l'usage des outils, et le langage. Depuis la publication des travaux de l'influent linguiste Noam Chomsky [1], le langage est présenté comme une capacité spécifiquement humaine, fondamentalement différente de la communication animale. Inutile de rechercher chez les primates non humains l'existence de précurseurs, de briques élémentaires sur lesquelles cette capacité se serait développée dans notre lignée. C'est pourtant ce à quoi se sont

attelés quelques chercheurs à travers le monde : tenter de montrer que le langage



© Joël Fagot

humain, comme toutes les fonctions cognitives de notre espèce, est le produit de l'évolution et partage certains de ses

composants avec les autres animaux. Parce que le langage est apparu tardivement au cours de l'évolution humaine, cette fonction pourrait s'être développée en « colonisant » des composants cérébraux et cognitifs déjà en place. C'est l'hypothèse du *neural re-use* [2] : par exemple, la réutilisation des aires cérébrales en charge des émotions pour traiter les mots à forte valence émotionnelle [3], ou encore la réutilisation des zones motrices du cerveau pour traiter les verbes d'action [4]. Ces régions cérébrales et leurs fonctions - qui ne sont pas spécifiquement linguistiques - sont partagées par un grand nombre de primates non humains, de mammifères et d'oiseaux. Plus surprenant encore, ce partage concerne également des fonctions que l'on croyait uniquement humaines parce que rattachées au langage, comme

Vignette de l'article. Illustration : © CNRS/LPC/Stéphane Dufau - Photographie : © CNRS Photothèque/ Cyril Fressillon.