

> Les Nouvelles suivantes ont été rédigées par les étudiants de Master 1 de biologie de l'École normale supérieure de Lyon à l'issue de l'UE microbiologie moléculaire et structurale (2017-18). Le Master de biologie de l'ENS de Lyon, cohabilité par l'université Claude Bernard Lyon 1, accueille chaque année environ 50 étudiants en M1 et en M2 et propose une formation de haut niveau à la recherche en biosciences. Chaque étudiant y construit son parcours à la carte en choisissant ses options parmi un large panel de modules, favorisant ainsi une approche pluridisciplinaire des sciences du vivant, et ce en relation étroite avec les laboratoires de recherche du tissu local, national et international. À partir d'articles scientifiques publiés récemment dans le domaine de la microbiologie, les étudiants ont travaillé en binômes ou trinômes, accompagnés par l'équipe pédagogique, pour extraire les principaux messages à retenir de ces articles et les transmettre de façon claire aux lecteurs de *médecine/sciences*. Le dossier suivant illustre ainsi quelques aspects du système CRISPR/Cas en microbiologie, avec, d'une part, la description de nouveaux systèmes CRISPR/Cas et de leurs fonctions physiologiques chez les bactéries, et, d'autre part,

Partenariat *médecine/sciences* - Écoles doctorales - Masters (15)

**Le système CRISPR/Cas en microbiologie :
fonctions naturelles et applications en
bactériologie et en virologie**

*The CRISPR/Cas system in microbiology:
natural functions and applications in
bacteriology and virology*



ÉCOLE
NORMALE
SUPÉRIEURE
DE LYON

Équipe pédagogique

Chloé Journo (maître de conférences, ENS de Lyon). Co-responsable de l'UE microbiologie moléculaire et structurale. Équipe oncogénèse rétrovirale, Centre international de recherche en infectiologie, Inserm U1111 - CNRS UMR5308, École normale supérieure de Lyon, Lyon, France ;

Christophe Gilbert (maître de conférences, université Claude Bernard Lyon 1). Équipe pathogénèse des légionelles, Centre international de recherche en infectiologie, Université Lyon 1, Inserm U1111 - CNRS UMR5308, École normale supérieure de Lyon, Lyon, France.

Théodore Grenier (doctorant moniteur, ENS de Lyon). Équipe génomique fonctionnelle des interactions hôte/bactéries, Institut de génomique fonctionnelle de Lyon, Université de Lyon, École normale supérieure de Lyon, CNRS UMR 5242, Université Claude Bernard Lyon 1, Lyon, France.

chloe.journo@ens-lyon.fr

leurs applications en bactériologie pour l'édition de génomes bactériens, mais aussi en virologie pour le criblage pangénomique de facteurs d'hôte pro- ou antiviraux ou pour la génération de modèles animaux. <

INTRODUCTION

Du locus CRISPR bactérien, une forme d'immunité adaptative, à un outil général d'édition du génome

Adèle Friot, Blanche Dekeyzer, Armelle Guingand, Justine Guguin, Amélie Joly, Sylvia Vuillier

École normale supérieure de Lyon,
département de biologie, Master biologie,
Lyon, France.

> Tous les êtres vivants peuvent être soumis à l'action de parasites présents dans leur environnement. Les bactéries, qu'elles soient infectieuses ou non, sont susceptibles d'être infectées par certains types de virus : les bactériophages.

De façon comparable aux organismes pluricellulaires possédant une immunité anti-infectieuse, les bactéries sont dotées de mécanismes de défense contre les bactériophages. Plus généralement, ces mécanismes de défense protègent

les bactéries de l'apport de matériel nucléaire exogène, qu'il soit issu de bactériophages ou d'autres bactéries (plasmides conjugatifs ou ADN libéré dans l'environnement et acquis par transformation naturelle).



L'un de ces mécanismes de défense est le système CRISPR/Cas (*clustered regularly interspaced short palindromic repeats/CRISPR associated*). À ce jour, six classes (I à VI) de systèmes CRISPR/Cas ont été décrites chez les bactéries (pour revue voir [1]). Le mieux décrit est le système CRISPR/Cas9, un système de classe II. Le locus CRISPR est constitué de séquences nucléiques répétées partiellement palindromiques, séparées par des « cassettes » d'ADN appelées espaceurs, spécifiques de séquences nucléiques étrangères et acquises lors de la rencontre antérieure avec ces séquences, lors d'une phase dite d'adaptation. Lors de la transcription du locus CRISPR, un pré-ARN CRISPR (pré-crARN) est généré et clivé afin de produire des ARN CRISPR (crARN), correspondant chacun à un espaceur (voir *Figure 1A, panneau de droite, Nouvelle de A. Friot et al., page 397*). Dans le système CRISPR/Cas de type II, la maturation du pré-crARN en crARN nécessite l'intervention d'une RNase III, d'une nucléase appelée Cas9 ainsi que d'un crARN transactivateur (tracrARN). Cette phase est appelée phase d'expression. Les crARN produits sont ensuite pris en charge par des tracrARN associés à des

complexes multiprotéiques composés de protéines Cas. Les crARN servent d'ARN guide pour les enzymes Cas en permettant la reconnaissance spécifique de matériel génétique étranger ayant une séquence complémentaire. L'hybridation de ces crARN à une séquence génétique étrangère induit le clivage de cette séquence par les protéines Cas, aboutissant à sa dégradation, ce qui est appelé phase d'interférence (voir *Figure 1A, panneau de droite, Nouvelle de A. Friot et al., page 397*). Ainsi, en induisant la dégradation du matériel génétique étranger, le système CRISPR/Cas confère une résistance à la bactérie. L'évolution du locus CRISPR en fonction de l'histoire de vie de la bactérie en fait donc un système assimilable à une forme d'immunité adaptative.

Ce mécanisme de défense a été étudié et exploité en recherche [2]. En effet, il est possible de générer artificiellement de petits transcrits associés à un tracrARN permettant ainsi la synthèse d'un ARN guide. Cet ARN a alors la capacité de cibler le matériel génétique d'intérêt tout en interagissant avec des protéines Cas. Lorsque les protéines Cas clivent le matériel génétique, celui-ci peut être réparé via une

recombinaison homologue. Afin d'effectuer une insertion ou une modification précise, il est possible de fournir un ADN modèle qui sera utilisé pour la réparation (voir *Figure 1, Nouvelle de P. Castagné et al., page 400*). Cette matrice pourra alors être adaptée selon la question scientifique. De ce fait, le système CRISPR/Cas, naturellement présent chez les bactéries comme mécanisme de défense, peut également être exploité en recherche comme outil d'édition des génomes. Dans les brèves qui suivent, les fonctions naturelles du système CRISPR/Cas dans le contexte de l'acquisition d'une résistance aux antibiotiques sont explorées, et l'exploitation de ce système comme un outil expérimental en bactériologie et en virologie est illustrée par quelques exemples récents. ♦

From the bacterial CRISPR locus, an adaptive immune system equivalent, to a universal editing tool

RÉFÉRENCES

1. Koonin EV, Makarova KS, Zhang F. Diversity, classification and evolution of CRISPR-Cas systems. *Curr Opin Microbiol* 2017 ; 37 : 67-78.
2. Jinek M, Chylinski K, Fonfara I, et al. A programmable dual-RNA-guided DNA endonuclease in adaptive bacterial immunity. *Science* 2012 ; 337 : 816-21.

NOUVELLE

CRISPR/Cas et la restriction/modification dans la résistance au transfert conjugatif chez *Enterococcus faecalis*

Adèle Friot¹, Justine Guguin¹, Louisa Haniche¹, Sylvia Vuillier¹

¹ École normale supérieure de Lyon, département de biologie, Master biologie, Lyon, France.

> *Enterococcus faecalis* est une bactérie naturellement présente dans le microbiote gastro-intestinal chez l'homme [1], qui peut être à l'origine d'infections nosocomiales opportunistes lorsqu'elle colonise des plaies ou le système sanguin [2]. Les souches d'*E. faecalis* les plus pathogènes sont celles qui ont acquis une multirésistance aux antibiotiques (à la vancomycine, au linézolide, etc.) [3], rendant le

traitement de ces infections particulièrement difficile. Cette multi-résistance est acquise par transfert horizontal d'éléments génétiques mobiles (MGE, *mobile genetic elements*) portant des gènes de résistance [4, 5].

Néanmoins, les bactéries possèdent des systèmes de défense contre les éléments génétiques mobiles : le système restriction/modification (R/M) et le système CRISPR/

Cas, qui sont souvent présentés comme des mécanismes bactériens d'« immunité innée » et d'« immunité adaptative », respectivement. Le système R/M repose sur le clivage non spécifique du matériel génétique entrant par une endonucléase (fonction R, restriction, du système R/M), et sur la protection du génome bactérien par méthylation (action de la méthylase M associée). La signature de méthylation