

Interactions virus-cellule - session III

Immunité innée

Vendredi 23 mars 2018, 14 h 00-15 h 30

Modérateurs : Henry Gruffat et Danielle Blondel
 Communications orales O34 à O38
 Affiches P1 à P29, P81, P82, P95, P96

O34

RIG-I recognizes 5' region of the genome of Dengue and Zika viruses

Maxime Chazal¹, Guillaume Beauclair¹, Segolene Gracias¹,
 Valérie Najburg¹, Etienne Simon-Lorriere², Frédéric Tangy¹,
 Anastasia Komarova¹, Nolwenn Jouvenet¹

¹ *Unité génomique virale et vaccination, Département de virologie, Institut Pasteur de Paris, France*

² *Unité de génétique fonctionnelle des maladies infectieuses, Institut Pasteur de Paris, France*

<maxime.chazal@pasteur.fr>

The flavivirus genus comprises major human pathogens, such as Dengue virus (DENV) and Zika (ZikV) viruses. As in any viral infection, the innate immune system has evolved mechanisms to contain flaviviral infections. One of these mechanisms is based on the recognition viral RNAs that are generated during viral replication by members of the cytoplasmic RIG-I-like-receptors (RLR) family. Previous works showed that the two RLRs RIG-I and Mda5 are critical for detecting and responding to flavivirus *in vivo*. However, the exact sequence of flavivirus RNA that is recognized by these two RLRs is not known. A ribo-proteomic approach combined with next-generation sequencing (NGS) was used to identify the DENV RNA motif(s) recognized by RIG-I and Mda5 in human cells. We first characterized kinetic of replication of low-passaged isolates of 2 genetically distant DENV serotypes in human cells stably expressing one-STREP-tagged (ST)-RIG-I or ST-Mda5 proteins. Innate immune response induced in ST-RLR cells upon DENV2 and DENV4 infection was also characterized. ShRNA silencing approach revealed that, in our cellular model, RIG-I is the primary sensor for DENV2 and DENV4. Consistently, viral RNAs that co-purified with RIG-I were immunostimulatory, whereas the ones bound to Mda5 were not. Analysis of NGS data of RNAs bound to RLRs suggests that RIG-I recognizes specifically the 5' region of the DENV genome. No specific enrichment of viral RNAs was found attached to Mda5. The NGS data were validated by quantitative PCR and by immunoactive experiments performed with DENV RLR ligands produced *in vitro*. These *in vitro* experiments also demonstrate that 5'-triphosphates are necessary for recognition of DENV genomes by the cell. Finally, 5' region of the genome of ZikV was also recognized by RIG-I. Our data underlines the role played by RIG-I in human cells infected by DENV and ZikV and identifies, for the first time, RNA ligand for RIG-I recognition of these 2 flaviviruses. We propose that the highly structured 5' region of DENV and ZikV nascent transcripts produced during replication and before capping are RIG-I ligands.

O35

Comprendre la clonalité rétrovirale chez des primates non humains naturellement co-infectés par différents rétrovirus exogènes : STLV-1, SIV-1 et spumavirus

Brice Jégado, Jocelyn Turpin, Magali Naville, Sandrine Alais, Romain Lacoste, Jean Nicolas Volff, Charles Bangham, Renaud Mahieux
Centre international de recherche en infectiologie (CIRI), Université Claude Bernard -Lyon I, Inserm U1111, 21 avenue Tony Garnier 69365 Lyon cedex 07, France
 <renaud.mahieux@ens-lyon.fr>

L'homme peut être infecté par au moins trois espèces différentes de rétrovirus exogènes : le virus de la leucémie T humaine de type 1 (HTLV-1), le virus de l'immunodéficience humaine de type 1 (VIH-1) et le virus foamy humain (HFV). Les virus HTLV-1 et HIV-1 sont pathogènes chez l'homme et une transmission interhumaine est possible. Concernant le virus HFV, celui-ci montre une infection asymptomatique et aucun cas de transmission interhumaine n'a été répertorié. L'origine de ces rétrovirus provient de la transmission inter-espèces entre les primates non-humains et les hommes. En effet, les virus STLV, SIV et SFV sont, respectivement, les virus homologues des rétrovirus HTLV, HIV et HFV. De plus, ces virus ont un tropisme similaire. Cependant, HTLV-1 et STLV-1 favorisent l'expansion clonale tandis HIV-1 et SIV-1 engendrent l'apoptose cellulaire. De façon intéressante, certains cas de co-infections naturelles (HIV-1/HTLV-1, HTLV-1/HFV ou SFV/STLV-1) ont été répertoriés. Notre projet a pour objectif de quantifier l'impact de la co-infection par différents rétrovirus exogènes sur la clonalité virale. Nous étudions la distribution clonale des virus SFV et STLV1 chez deux espèces de primates non-humains, le babouin (*P. anubis*) et le mandrill (*M. sphinx*), naturellement infectés par une (SFV), deux (SFV/STLV-1, STLV-1/SIV-1, SFV/SIV-1) ou trois (SFV/STLV-1/SIV-1) espèces rétrovirales. Afin de réaliser ce projet, les sites d'intégration proviraux sont cartographiés par LM-PCR (*Ligation Mediated-PCR*) et séquençage haut débit. L'introduction d'UMIs (Unique Molecular Identifiers) au sein du "linker" nous permet de quantifier l'abondance de chacun des clones. Nos résultats démontrent pour la première fois que le rétrovirus SFV a la capacité d'induire l'expansion clonale pour se répliquer. La contribution relative de l'expansion clonale et de la réplication virale des virus SFV *in vivo*, est en court d'évaluation. Notamment dans le cas de la co-infection STLV-1/SFV, nos premiers résultats démontrent que l'infection par STLV-1 n'est pas neutre et augmente la charge provirale de SFV dans la salive. Dans un futur proche, une analyse globale sera réalisée afin de mettre au point un modèle statistique sur la dynamique de la clonalité rétrovirale. L'étude de la clonalité représente un outil puissant pour mieux comprendre la dynamique rétrovirale dans le cas de co-infections naturelles chez l'hôte, ici, les primates non-humains, qui pourrait être étendue aux co-infections identifiées chez l'homme.

O36

Trans-species synthetic gene design allows resistance pyramiding and broad-spectrum engineering of virus resistance

Anna Bastet^{1,2}, Baptiste Lederer¹, Nathalie Giovino¹,
 Xavier Arnoux³, Sylvie German-Retana³, Catherine Reinbold⁴,
 Véronique Brault⁴, Damien Garcia⁵, Samia Djennane⁴, Sophie Gersch⁴,
 Olivier Lemaire⁴, Christophe Robaglia², Jean-Luc Gallois¹

¹ *Génétique et amélioration des fruits et légumes (GAFL), INRA (FRANCE) UMR1052, Centre INRA Avignon, allée des chênes 84140 Montfavet, France*

² *Biologie végétale et microbiologie environnementale, UMR7265 (BVME), Aix-Marseille Université UMR7265, CEA DSV/IBEB, CNRS UMR7265, DEVM, bat.177, 13108 St Paul-les-Durance cedex, France*

³ *Biologie du fruit et pathologie (BFP), Université Bordeaux Segalen-Bordeaux 2, INRA UMR1332, Université sciences et technologies Bordeaux 1, Centre INRA Bordeaux-Aquitaine, 71 avenue Bourloux, BP81, 33883 Villenave d'Ornon, France*

⁴ *Santé de la vigne et qualité du vin (SVQV-INRA-UDS), INRA UMR1131, 28 rue de Herrlisheim 68021 Colmar Cedex, France*

⁵ *Institut de biologie moléculaire des plantes (IBMP), université de Strasbourg, CNRS UPR2357, 12 rue du général Zimmer 67084 Strasbourg cedex, France.*

<anna.bastet@inra.fr>

To infect plants, viruses heavily rely on their host's machinery. Plant genetic resistances based on host factors modifications are available among the natural variability and widely used for some but not all crops. While biotechnology can supply for this lack, new strategies should be developed to increase resistance spectrum and durability without impacting the plant development. Here, I show how the targeted allele modification of the

Arabidopsis thaliana translation initiation factor eIF4E1 can lead to a large and efficient resistance to the major group of potyviruses. This study makes the proof-of-concept for the efficiency of synthetic biology combined with the knowledge brought by natural variation to generate trans-species virus resistance at no developmental cost for the plant. This has serious implications in breeding for the development, by recent genome editing techniques, of crops with broad-spectrum and high durability resistance.

O37

Nitric-oxide controls phage-mediated horizontal gene transfer in Enterobacteria

Maëlle Delannoy¹, Stephanie Champ¹, Yann Denis², Alice Boulanger^{1,3}, Gael Brasseur¹, Mireille Ansaldi¹

¹ Laboratoire de chimie bactérienne, UMR7283, Institut de microbiologie de la Méditerranée, (CNRS-LCB AMU), CNRS UMR7283, Aix-Marseille Université (AMU), 31 chemin Joseph Aiguier, 13402 Marseille cedex 20, France

² Institut de microbiologie de la Méditerranée, CNRS UMR7283, Aix-Marseille Université (AMU), 31 chemin Joseph Aiguier, 13402 Marseille cedex 20, France

³ Laboratoire des interactions plantes micro-organismes (LIPMO), INRA, CNRS UMR2594, Chemin de Borde-Rouge, BP 27, 31326 Castanet Tolosan cedex, France

<ansaldi@imm.cnrs.fr>

Bacterial genomes contain large amounts of proviruses also called prophages, either functional or defective for infectious propagation. All these prophages contribute to bacterial genome evolution by providing an additional pool of genes that sometimes accommodate new properties to the host, a phenomenon called lysogenic conversion. Prophages usually hijack the host stress response signalisation to resume a lytic cycle when conditions become threatening for the host and therefore for the integrated prophage. Our recent work shows that nitric oxide serves as a maintenance signal and induces the production of a nitric oxide reductase, which in turn prevents prophage induction independently of its usual activity. Surprisingly, nitric oxide, which is a potent nitrosative agent responsible for many cellular damages, does not promote prophage induction but rather counteracts the SOS-response outcome. These results make particularly sense for enterobacteria and their prophages when exposed to nitric oxide produced in the gut during inflammation or through their own anaerobic respiration.

O38

Modulation de la voie de signalisation NF-B par la glycoprotéine d'enveloppe du VIH-2 et son activité anti-BST-2

François Dufrasne¹, Mara Lucchetti², Anandi Martin², Jean Ruelle³, Patrick Goubau²

¹ Université catholique de Louvain, Unité de microbiologie médicale (MBLG), Laboratoire de référence sida, Avenue Hippocrate, 54, Tour Claude Bernard (54) 1200 Bruxelles, Belgique

² Laboratoire de référence sida, Université catholique de Louvain (UCL), Belgique

³ Laboratoire de référence sida, Université catholique de Louvain (UCL), Avenue Hippocrate, 54, Tour Claude Bernard (54), 1200 Bruxelles, Belgique

<francois.dufrasne@uclouvain.be>

Les virus de l'immunodéficience humaine exploitent le facteur de transcription NF-B pour assurer la transcription des gènes proviraux. Cependant, NF-B est principalement connu pour agir comme un régulateur clé des réponses pro-inflammatoires et antivirales. Fait intéressant, les rétrovirus activent NF-B au cours des premiers stades de l'infection pour initier l'expression du génome proviral tout en supprimant cette activation aux stades tardifs pour restreindre l'expression des gènes antiviraux. Au cours de l'infection par le VIH-1, diverses protéines virales telles que Env, Nef et Vpr ont été proposées comme étant des protéines activatrices de NF-B, alors que Vpu s'est avéré inhiber l'activation de NF-B. Actuellement, aucune étude n'a examiné les effets de la protéine Env du VIH-2 dans l'activation de NF-B, ni les impacts de l'antagonisme de la protéine BST-2/Tétherine médiée par Env dans la modulation de la voie de signalisation NF-B. Dans cette étude, nous avons investigué les impacts potentiels de la protéine Env du VIH-2 dans l'activation de NF-B. Premièrement, nous avons démontré que Env du VIH-2 était capable d'induire une activation de NF-B, de la même manière que la protéine Env du VIH-1. Nous avons également montré que Env du VIH-2 exploitait TRAF6 pour déclencher l'activation de NF-B et que le domaine cytoplasmique de Env était impliqué dans cette fonction. Deuxièmement, nous avons confirmé que BST-2 pouvait également amorcer la stimulation de NF-B, et que la co-expression avec Vpu du VIH-1 abolissait cette activation, essentiellement grâce à la dégradation de BST-2 et à la stabilisation des protéines IκB. Toutefois, le VIH-2 n'encode pas le gène *vpu* et repose sur sa glycoprotéine d'enveloppe pour antagoniser BST-2 mais contrairement à la protéine Vpu du VIH-1, cela ne conduit pas à la dégradation de BST-2. Ainsi, nous avons testé l'efficacité du rôle anti-BST-2 de la protéine Env du VIH-2 dans l'inhibition de l'activation de NF-B. En présence de BST-2, la protéine Env du VIH-2 n'entraîne pas une inhibition complète de l'activation de NF-B, contrairement à la protéine Vpu du VIH-1. Dans l'ensemble, nos résultats suggèrent que l'antagonisme de BST-2 par la protéine Env du VIH-2 n'est pas suffisant pour inhiber complètement l'activité de NF-B pendant le cycle de réplication. Dans nos modèles expérimentaux, bien que les cellules ont déclenché une forte activation de NF-B en réponse à la protéine Env du VIH-2, cette protéine tardive n'a pas réussi à restreindre complètement l'expression des gènes antiviraux, tel que révélé par les expériences de l'activation de NF-B lors de l'assemblage de virions du VIH-2. De plus, nos résultats suggèrent également que le VIH-2 n'exprime pas d'inhibiteur de l'activité de NF-B au cours de son cycle de réplication, contrairement au VIH-1. Cette étude met en évidence l'importance de l'efficacité d'une activité anti-BST-2 dans la régulation de NF-B tout au long du cycle viral et pourrait fournir de nouvelles perspectives dans la compréhension des réponses immunitaires et antivirales observées lors d'infections par le VIH-2 par rapport au VIH-1.