

Importance de l'activation de l'immunité innée dans le mécanisme d'action anti-VIH-1 d'approches de thérapies géniques utilisant TRIM5 α .

Caroline DUFOUR, Natacha MÉRINDOL et Lionel BERTHOUX
Laboratoire d'immunité antivirale – Université du Québec à Trois-Rivières

Introduction

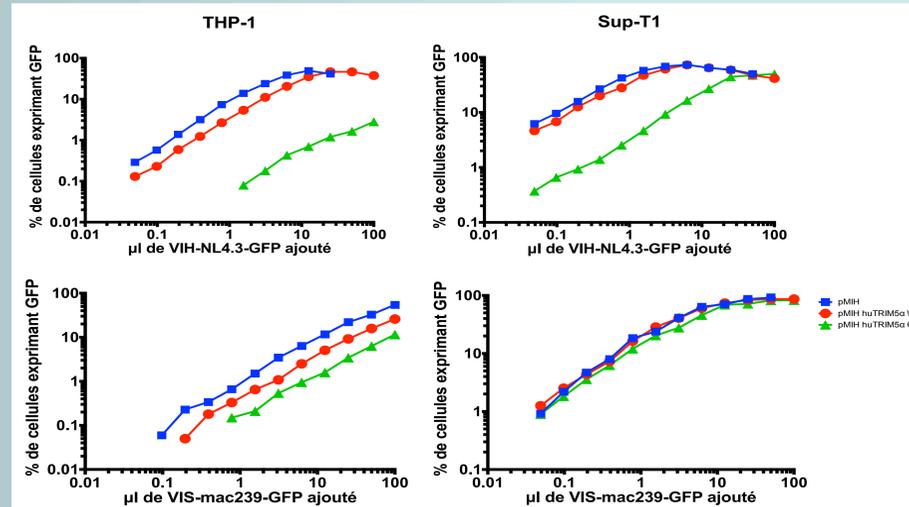
Généralité:

L'un des obstacles majeurs au développement d'un traitement curatif du SIDA réside dans la capacité du VIH-1 à infecter les cellules de manière latente. Des études portant sur l'approche « shock and kill »¹ ont mis en évidence l'effet activateur de la voie de signalisation NF- κ B sur les virus VIH-1 latents, puisque le promoteur du VIH-1 possède des sites pour NF- κ B et AP-1. TRIM5 α est une protéine cellulaire stimulée par les interférons de type I (IFN-I) qui peut bloquer la réplication des rétrovirus à un stade précoce de l'infection². Plusieurs équipes, dont la nôtre, ont démontré que TRIM5 α , en plus de causer la décapsidation prématurée du virus, serait un détecteur pour l'activation des voies de signalisation de la défense antivirale de l'immunité innée, principalement les voies NF- κ B, AP-1 et possiblement IRF3. Nous avons antérieurement produit un mutant de TRIM5 α humain (huTRIM5 α R332G-R335G) capable de reconnaître la capsid et de restreindre l'infection du VIH-1³, mais l'importance de son rôle d'activateur de l'immunité innée dans la protection contre le VIH-1 n'a pas encore été démontré.

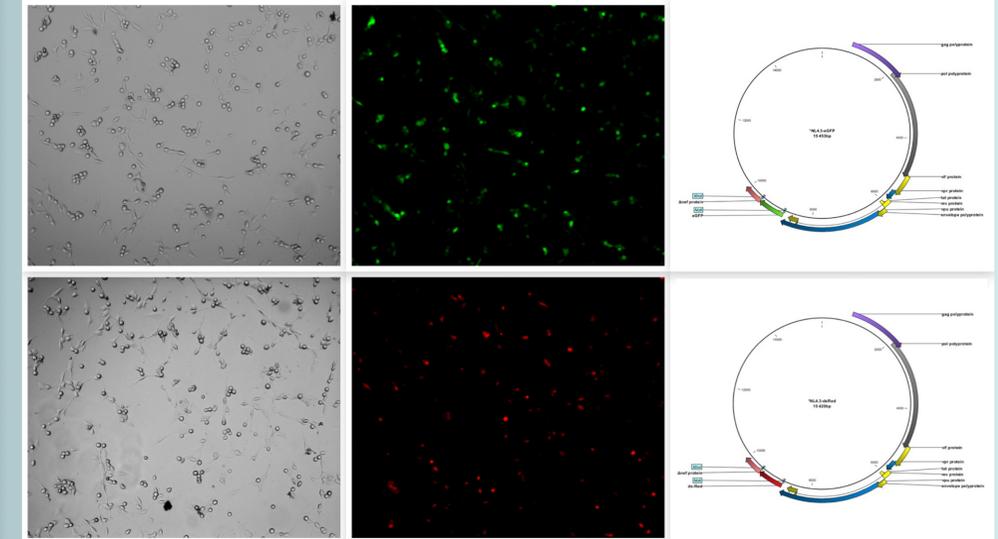
Objectifs:

Déterminer et caractériser le rôle activateur de l'immunité innée antivirale de huTRIM5 α R332G-R335G dans la restriction de l'infection au VIH-1, ainsi que l'effet de cet état antiviral sur la réactivation des virus latents.

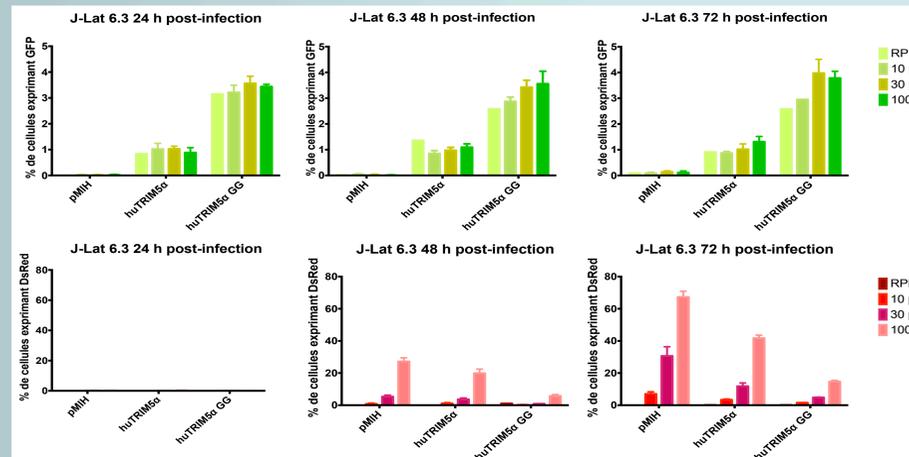
Restriction spécifique du VIH-1 par huTRIM5 α R332G-R335G



Production de vecteurs rétroviraux à partir de la nouvelle construction



Réactivation des virus latents lorsqu'il y a restriction par TRIM5 α

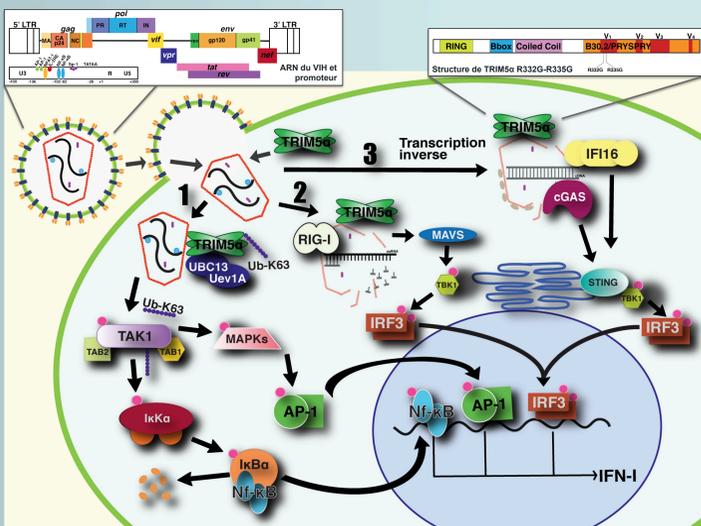


Procédure expérimentale

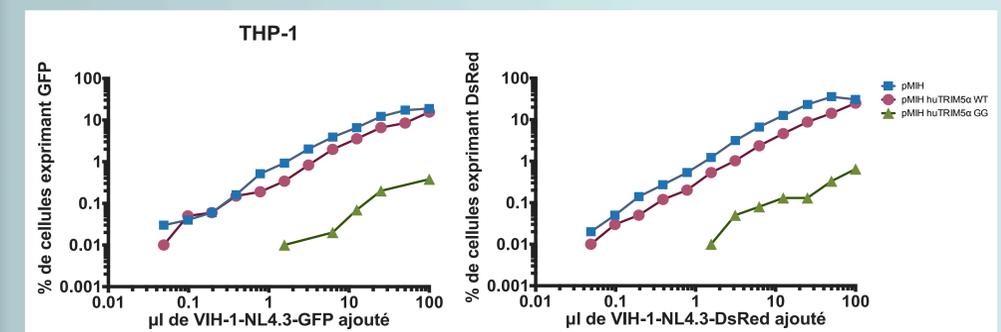
Méthodologie:

- Produire des lignées cellulaires monocytaires (THP-1), lymphocytaires (Sup-T1) et lymphocytaires avec un provirus VIH-1-GFP latent (J-Lat 6.3) surexprimant stablement huTRIM5 α R332G-R335G ou la version sauvage non restrictive;
- Confirmer l'efficacité et la spécificité de restriction du VIH-1 par huTRIM5 α R332G-R335G dans les cellules transformées;
- Évaluer l'effet de réactivation des virus VIH-1 latents lors de la restriction du VIH-1 par huTRIM5 α R332G-R335G;
- Construction d'un vecteur rétroviral VIH-1-NL4.3 exprimant le gène rapporteur DsRed à la place de GFP.

Rôle de TRIM5 α dans la restriction du VIH-1 et l'activation de l'immunité innée



Restriction de HIV-1-NL4.3-DsRed par huTRIM5 α R332G-R335G



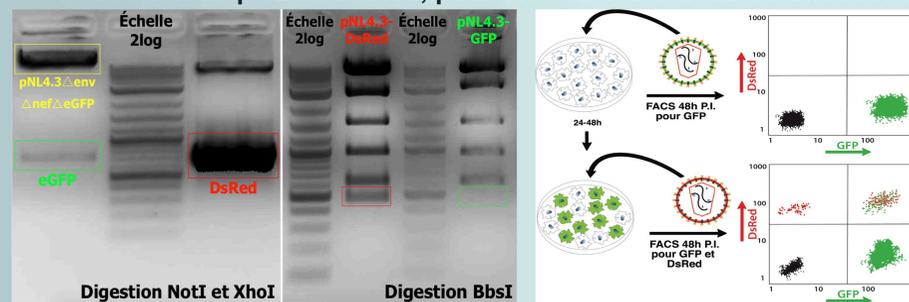
Conclusion

Nos résultats préliminaires nous permettent d'observer que la restriction du VIH-1 par huTRIM5 α R332G-R335G engendrait la réactivation des virus latents. Toutefois, le vecteur VIH-1 pCSRW, utilisé pour sa fluorescence rouge, ne contient pas autant de gènes du VIH-1 que pNL4.3 Δ env Δ nef-GFP, ce qui peut expliquer le faible taux de réactivation observé dans les cellules J-Lat 6.3 huTRIM5 α R332G-R335G. Une construction pNL4.3 Δ env Δ nef-DsRed a pu être créée, et nos résultats démontrent que ce nouveau virus est tout autant infectieux que HIV-1-NL4.3-GFP. Nous avons également mis en évidence que huTRIM5 α R332G-R335G restreint les deux constructions virales de façon similaire.

Perspectives:

- Évaluer les propriétés d'activation de l'immunité innée antivirale de huTRIM5 α R332G-R335G par Western Blot, microscopie à immunofluorescence et q-PCR;
- Évaluer l'effet protecteur de l'état antiviral, créé par la restriction du VIH-1 par huTRIM5 α R332G-R335G, lors d'une seconde infection;
- Identifier les voies d'activation de l'immunité innée impliquées et confirmer leur importance à l'aide de *knockdowns* et d'inhibiteurs pharmacologiques.

Construction de pNL4.3-DsRed, pour effectuer des doubles infections



Bibliographie

- Deeks, S. G. HIV: Shock and kill. *Nature* **487**, 439-440, doi:10.1038/487439a (2012).
- Merindol, N. & Berthoux, L. Restriction Factors in HIV-1 Disease Progression. *Curr HIV Res* **13**, 448-461 (2015).
- Pham, Q. T., Bouchard, A., Grütter, M. G. & Berthoux, L. Generation of human TRIM5 α mutants with high HIV-1 restriction activity. *Gene Therapy* **17**, 859-871, doi:10.1038/gt.2010.40 (2010).

Remerciement