

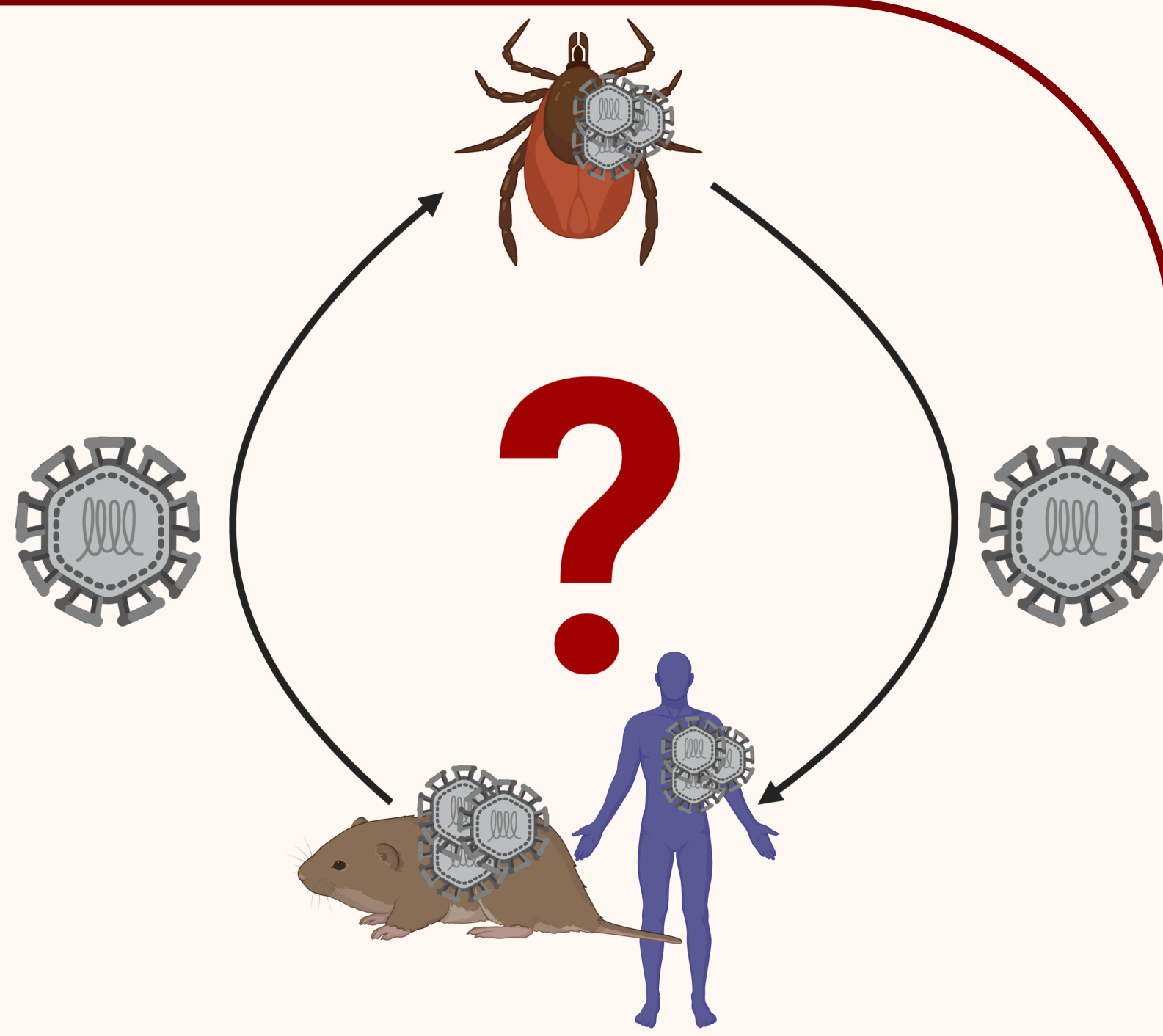
Axel Grot¹, Yves Unterfinger¹, Sandrine A Lacour¹, Lesley Bell-Sakyi², Houssam Attoui¹, Jennifer Richardson¹, et Marion Sourisseau¹

¹UMR1161 Virologie Ecole nationale vétérinaire - Alfort, Laboratoire de santé animale, sites de Maisons-Alfort et de Normandie, Institut National de Recherche pour l'Agriculture, l'Alimentation et l'Environnement – 7 avenue du Général de Gaulle 94704 MAISONS-ALFORT CEDEX, France

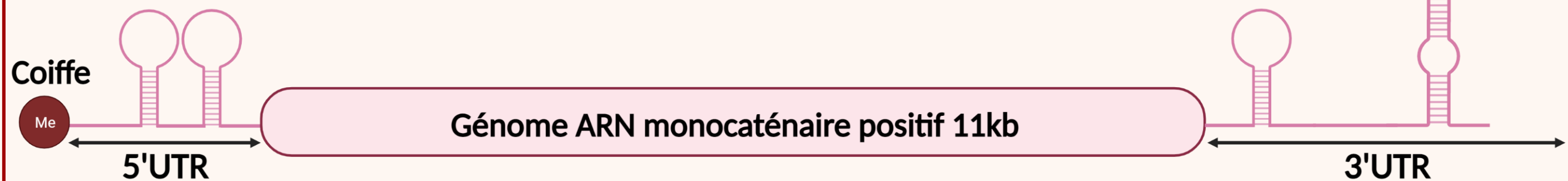
²Institute of Infection, Veterinary and Ecological Sciences, University of Liverpool, Liverpool Science Park IC2, 146 Brownlow Hill, Liverpool L3 5RF, United Kingdom

Contexte

Mécanismes moléculaires responsables de l'alternance hôte vertébré/arthropode des arbovirus non résolus



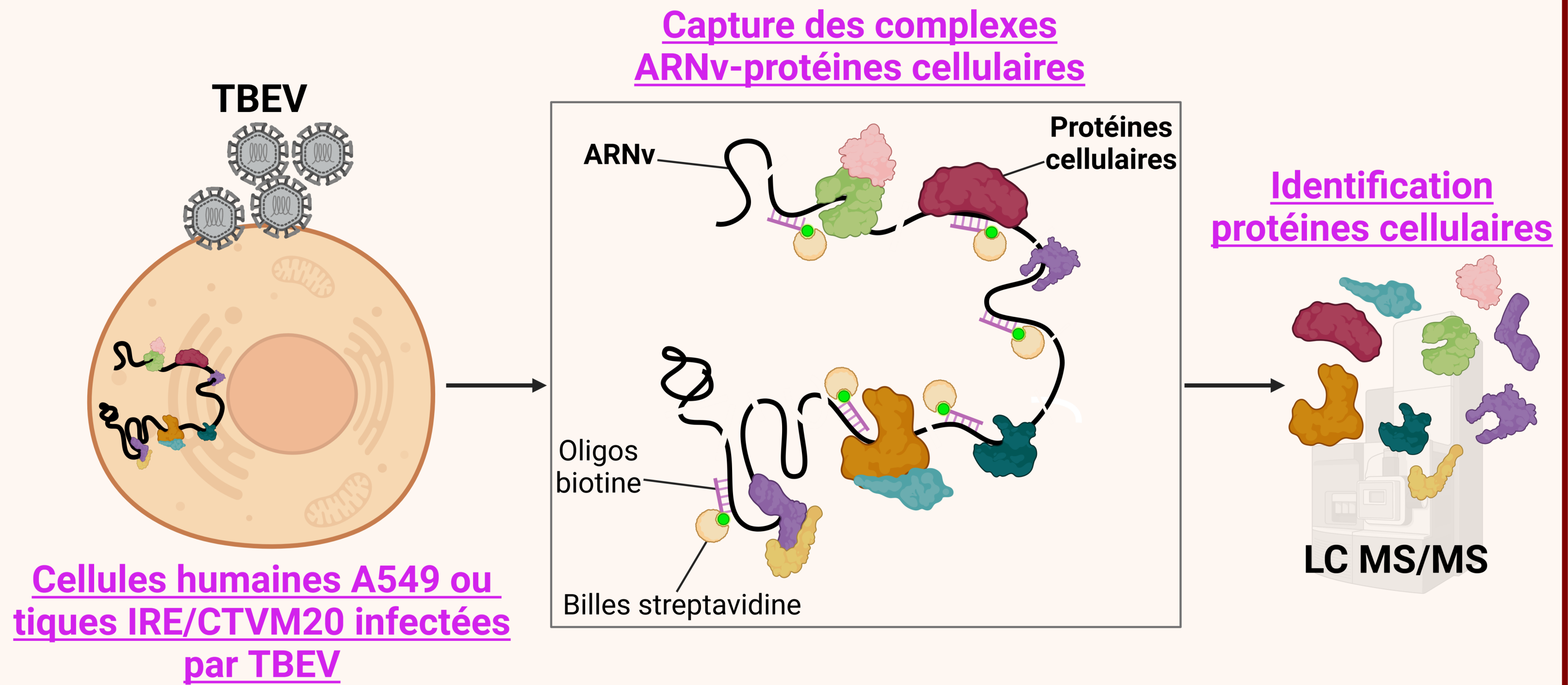
Virus de l'encéphalite à tique (TBEV)
Première arbovirose humaine d'Europe



♣ **Objectif du projet : criblage et caractérisation *in cellulo* de l'interactome protéique humain et tique du génome de TBEV.** Le but est d'identifier de nouveaux facteurs de dépendance ou de restriction de l'infection virale, dont certains pourraient participer à expliquer la capacité de TBEV à alterner entre ses deux hôtes.

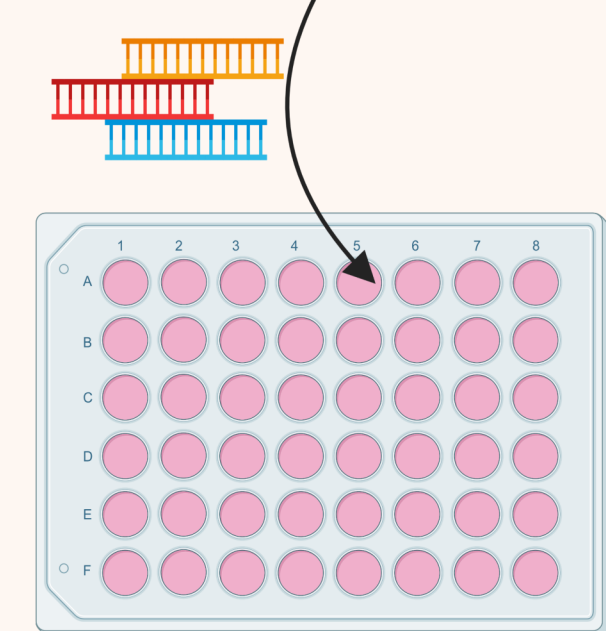
Méthodes

Criblage - ChIRP-MS (Comprehensive Identification of RBPs by Mass Spectrometry)

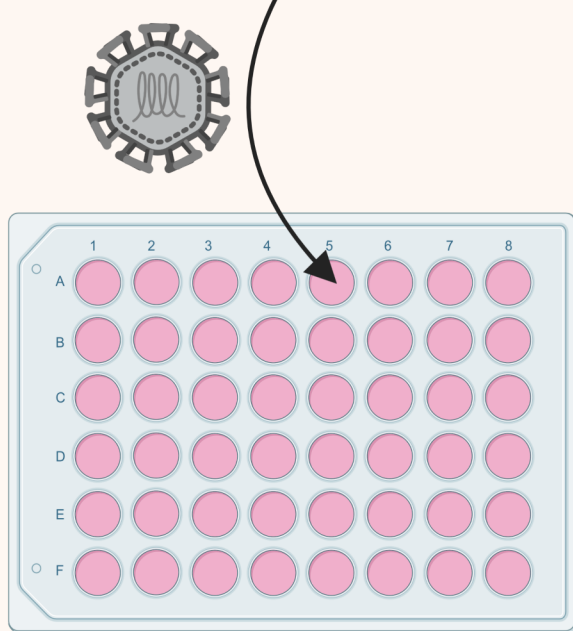


Caractérisation fonctionnelle

Transfection des cellules avec des siARN



Infection par TBEV



Cellules IRE/CTVM20 ou A549

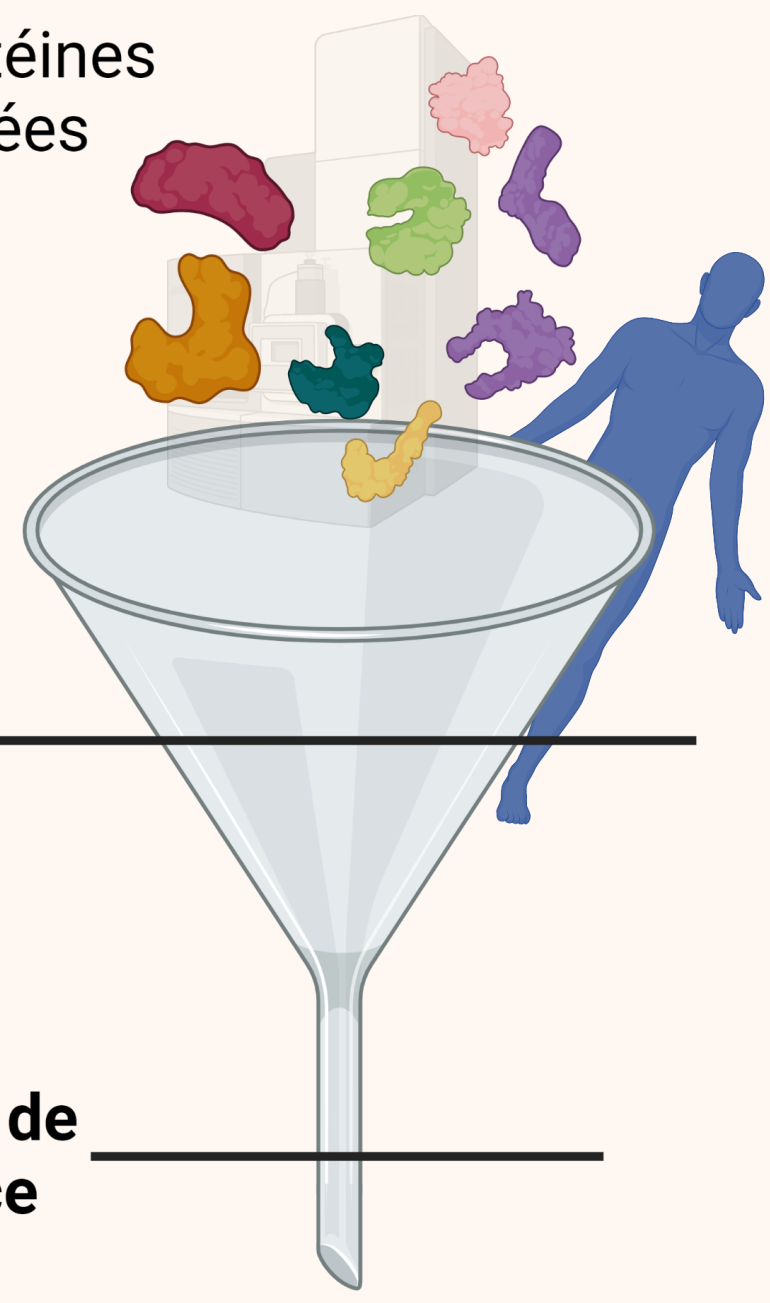
Les IRE/CTVM20 proviennent de la Tick Cell Biobank

Titrage des surnageants par TCID₅₀

Criblage des protéines liant le génome viral par ChIRP-MS

ChIRP-MS réalisé en lignée humaine A549 après 48h d'infection par TBEV

3610 protéines identifiées



827 interacteurs spécifiques de l'ARN de TBEV

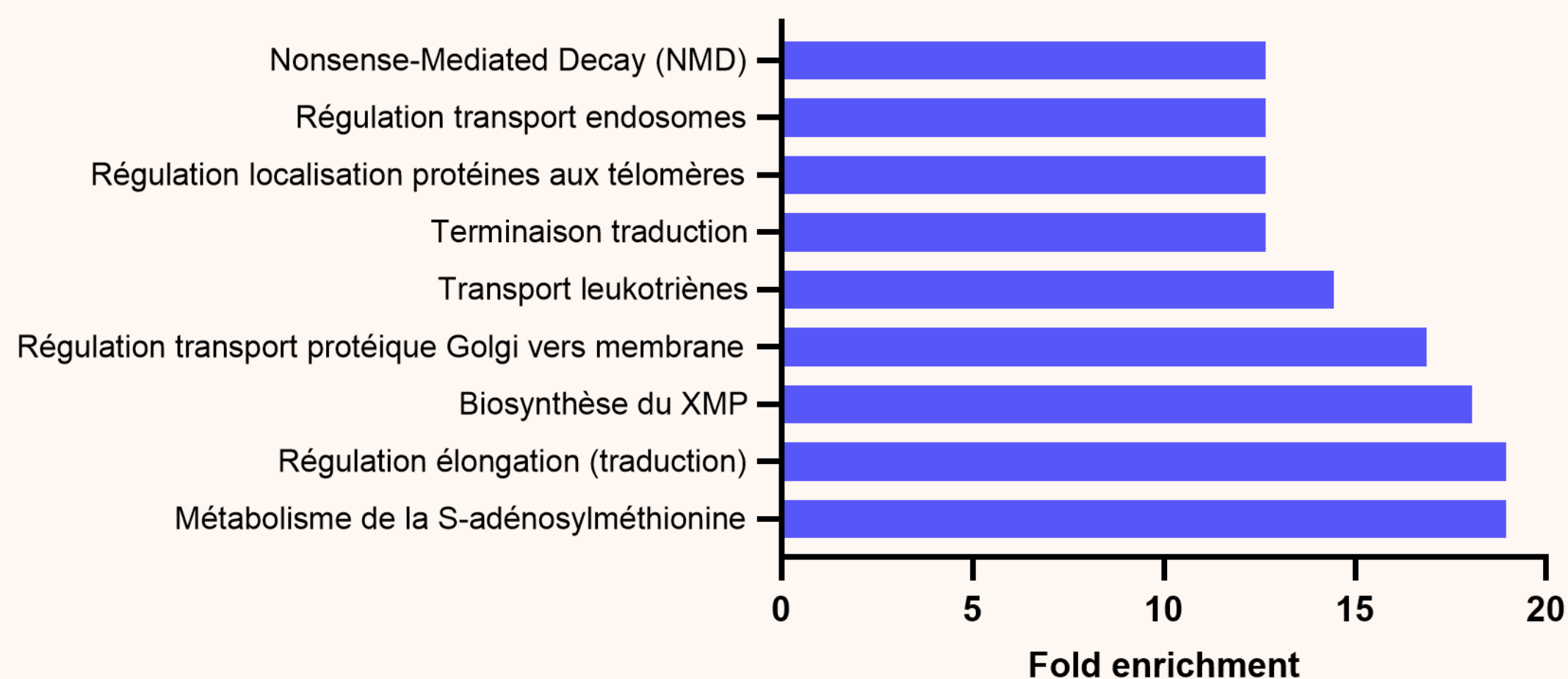
89 interacteurs de haute confiance

23 interacteurs sélectionnés pour l'étude fonctionnelle

| Humain | | |
|----------|---|-------|
| Protéine | Processus biologique | Score |
| MX2 | Immunité antivirale | 9209 |
| NUMB | Développement du système nerveux | 944 |
| IFIH1 | Immunité antivirale | 909 |
| GNA11 | Transduction de signaux transmembranaires | 561 |
| ABLIM1 | Organisation du cytosquelette | 410 |
| ASL | Synthèse d'acides aminés | 409 |
| HIBADH | Dégradation d'acides aminés | 407 |
| DNAJC21 | Folding protéique | 339 |
| DIP2B | Développement du système nerveux | 329 |
| GPATCH8 | Fonction biologique inconnue | 328 |

10 protéines humaines les plus enrichies par ChIRP-MS

GO-Term : Processus biologiques



ChIRP-MS réalisé en lignée tique IRE/CTVM20 après 48h d'infection par TBEV

2368 protéines identifiées

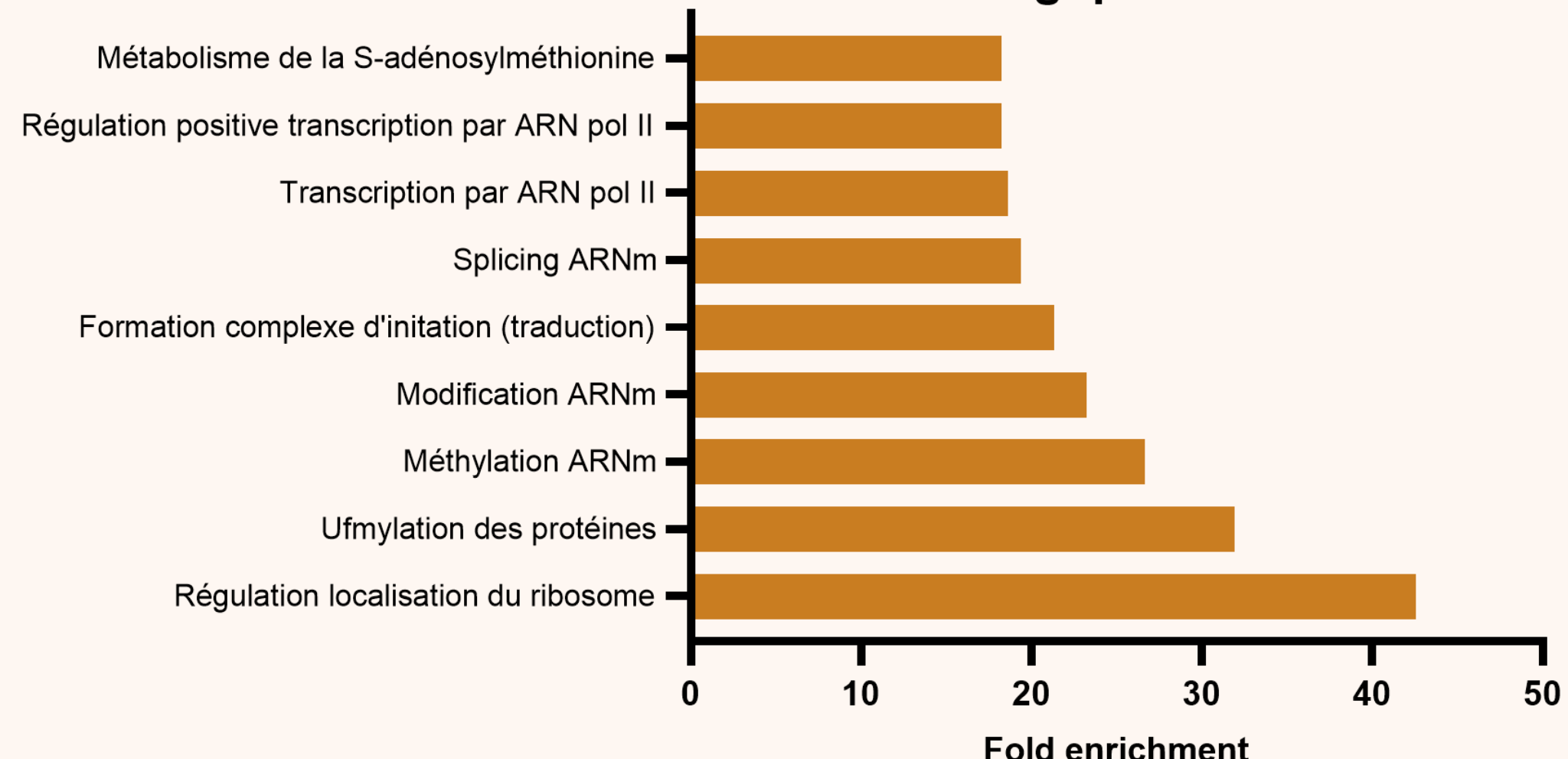


553 interacteurs spécifiques de l'ARN de TBEV

| <i>Ixodes ricinus</i> | | |
|---|-----------------------------------|-------|
| Protéine | Processus biologique | Score |
| Nuclear pore complex protein Nup205 | Organisation des pores nucléaires | 282 |
| Ubiquitin protein ligase edd | Ubiquitinylation des protéines | 281 |
| Alpha-1,4 glucan phosphorylase | Catabolisme du glycogène | 279 |
| TOG domain-containing protein | Organisation du cytosquelette | 273 |
| Chromodomain helicase DNA binding protein | Remodelage de la chromatine | 273 |
| DEAD box ATP-dependent RNA helicase | Splicing de l'ARNm | 270 |
| RNA helicase | Fonction biologique inconnue | 269 |
| Talin | Adhérence cellulaire | 262 |
| tRNA pseudouridine synthase D | Synthèse de nucléotides | 258 |
| Nuclear pore complex protein Nup160 | Organisation des pores nucléaires | 258 |

10 protéines tiques les plus enrichies par ChIRP-MS

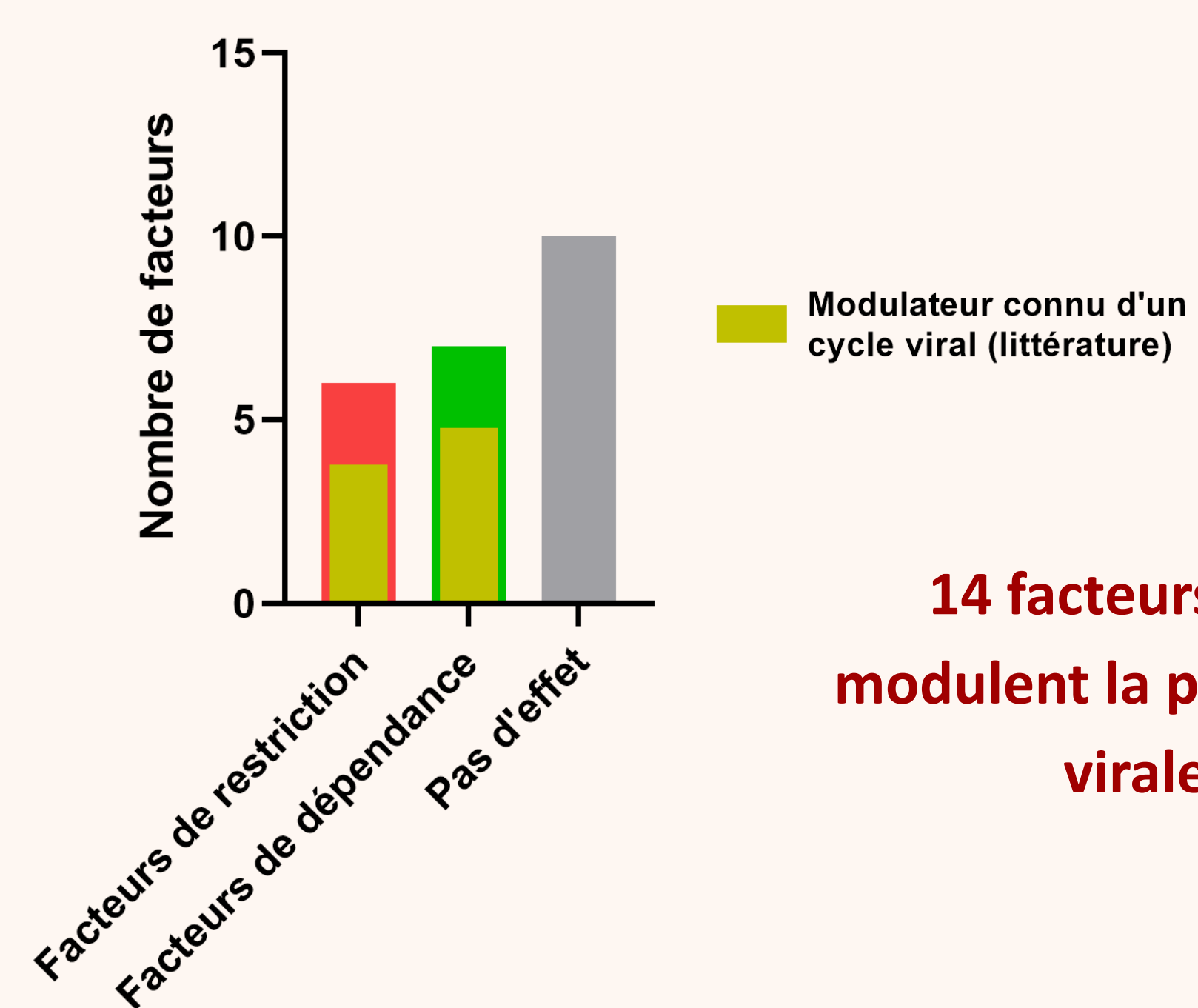
GO-Term : Processus biologiques



Caractérisation du rôle fonctionnel d'interacteurs du génome viral sur le cycle de TBEV

Résultat obtenu après titrage par TCID₅₀ des surnageants de culture de cellules humaines A549 silencées et infectées

Facteurs cellulaires modulant le cycle viral



14 facteurs sur 23 testés (60%) modulent la production de particules virales infectieuses.

Perspectives

- ♣ **Poursuite de la caractérisation fonctionnelle (cellules humaines)**
- ♦ évaluation d'autres paramètres viraux comme la réplication (RT-qPCR), et l'expression protéique (FACS)
- ♣ **Approfondissement mécanistique de facteurs ayant un fort impact sur le cycle viral (cellules humaines)**
- ♦ voies cellulaires associées et partenaires fonctionnels
- ♦ interaction directe ou indirecte avec l'ARNv
- ♦ domaines d'interaction impliqués
- ♣ **Poursuite de l'étude en cellules de tiques**
- ♦ sélection d'interacteurs d'intérêt
- ♦ mise au point de l'ARN interférence en IRE/CTVM20
- ♦ réalisation de l'étude fonctionnelle

Contact : axel.grot@vet-alfort.fr / marion.sourisseau@vet-alfort.fr