

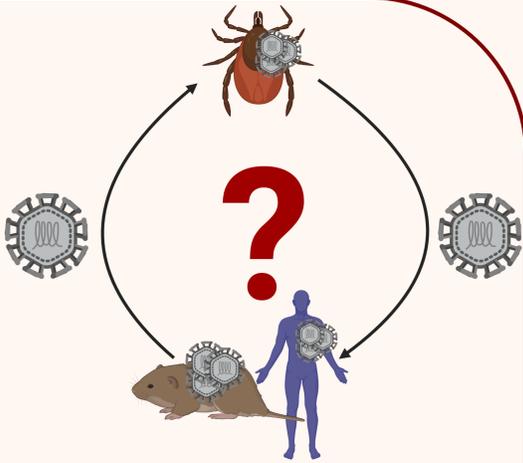
Axel Grot¹, Yves Unterfinger¹, Sandrine A Lacour¹, Lesley Bell-Sakyi², Houssam Attoui¹, Jennifer Richardson¹, et Marion Sourisseau¹

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

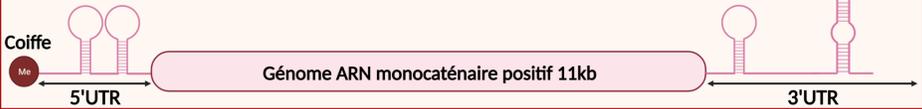
²Institute of Infection, Veterinary and Ecological Sciences, University of Liverpool, Liverpool Science Park IC2, 146 Brownlow Hill, Liverpool L3 5RF, United Kingdom

Contexte

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



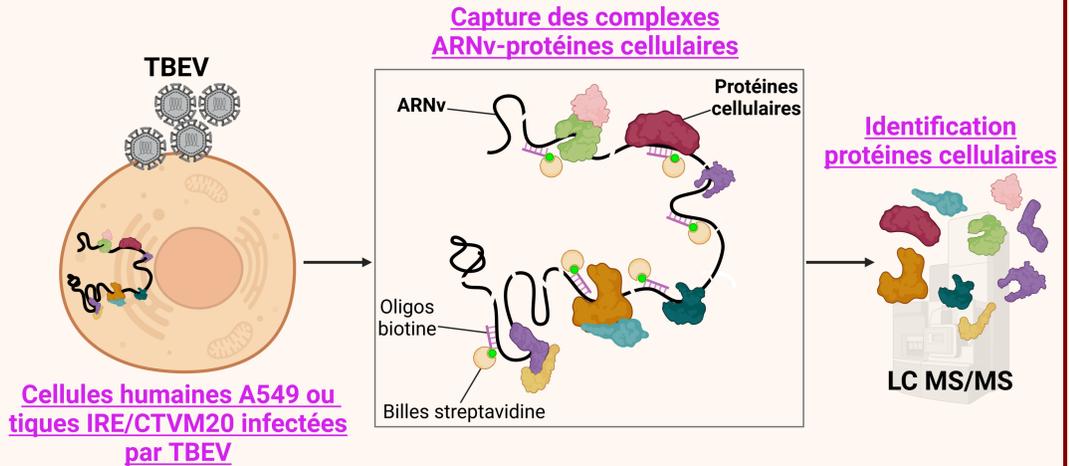
Virus de l'encéphalite à tique (TBEV)
Première arbovirose humaine d'Europe



♣ **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.

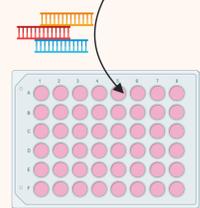
Méthodes

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

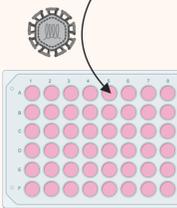


Caractérisation fonctionnelle

Transfection des cellules avec des siARN



Infection par TBEV



Cellules IRE/CTVM20 ou A549

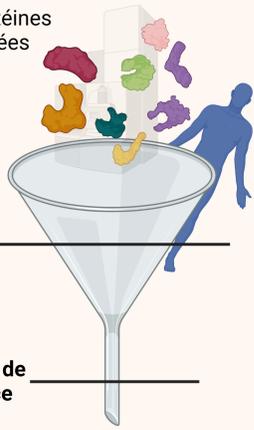
Les IRE/CTVM20 proviennent de la Tick Cell Biobank

Titration 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

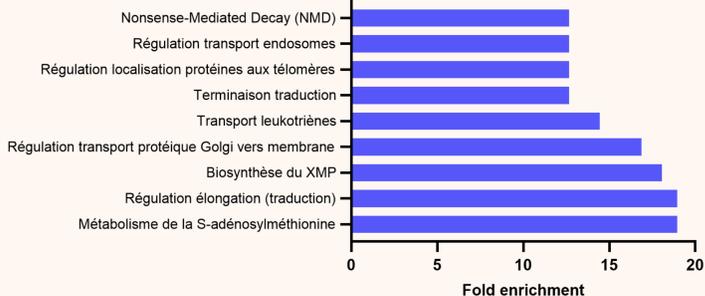
89 interacteurs de haute confiance

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

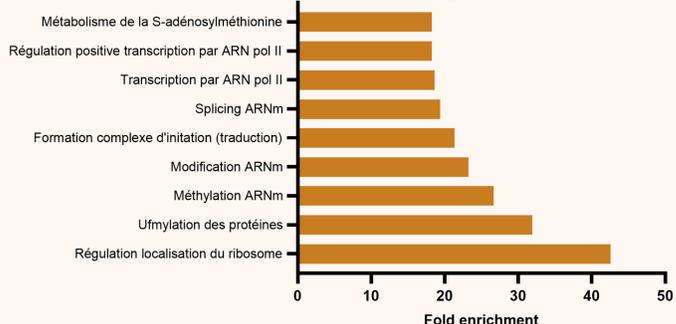


553 interacteurs spécifiques de l'ARN de TBEV

<i>Ixodes ricinus</i>		
Protéine	Processus biologique	Score
Nuclear pore complex protein Nup205	Organisation des pores nucléaires	282
Ubiquitin protein ligase E3	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

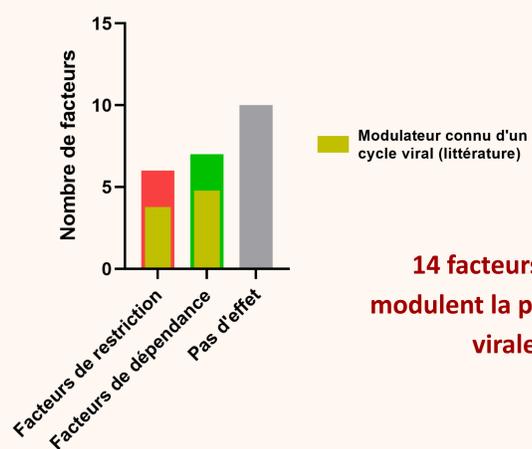
GO-Term : Processus biologiques



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