



Présentation des projets financés au titre de l'édition 2010 du Programme Blanc Inter SVSE 6

ACRONYME et titre du projet	Page
ARBOAS – Déchiffrer le rôle de la famille des gènes OAS chez l'homme dans la pathogénèse d'une infection arbovirale	2
Legumics – Utilisation de mutants d'insertion pour l'étude du développement des racines et des nodosités symbiotiques chez <i>Medicago truncatula</i>	5

Programme Blanc Inter SVSE 6

Edition 2010

Titre du projet	ARBOAS – Déchiffrer le rôle de la famille des gènes OAS chez l'homme dans la pathogénèse d'une infection arbovirale
Résumé	<p>L'immunité innée tient une place essentielle dans les toutes premières étapes des infections à arbovirus. Cependant, on dispose de peu d'informations sur l'immunité innée précoce et ses mécanismes qui contribuent à la mise en place d'une immunité protectrice chez l'hôte infecté. IFN-α/β constituent les toutes premières lignes de défense antivirale et induisent les 2',5'-Oligoadénylate Synthetases (OAS) qui ont un rôle déterminant dans l'établissement d'un état antiviral dirigé contre les virus à ARN y compris les flavivirus (virus de la dengue, DENV, West Nile, WNV, l'encéphalite japonaise, JEV) et les alphavirus (Chikungunya, CHIKV). DENV, WNV, JEV & CHIKV sont reconnus comme des arbovirus émergents de premier plan en santé publique en France et à Taiwan. Les OAS inhibent la réplication virale via l'endoribonucléase RNase L qui dégrade les ARN viraux. L'isoforme 1b du gène Oas1 de la souris a été identifié comme le déterminant majeur responsable de la résistance à l'infection par les flavivirus. La famille des gènes OAS humains se compose de 4 gènes dont certains subissent des épissages différentiels aboutissant à la synthèse d'une dizaine d'isoformes. Dans le cadre de cet appel d'offre conjoint ANR-NSC, nous proposons un projet collaboratif entre l'équipe française regroupant trois entités en génétique humaine, virologie moléculaire et biochimie à l'Institut Pasteur, Paris (IPP) et l'équipe taïwanaise en immunologie à Institute of Biomedical Sciences (IBS). Les équipes étudient les gènes de la famille OAS et ont publié plusieurs travaux sur ce sujet. L'unité IMFH, dirigée par Dr DESPRES à l'IPP, a découvert une relation directe entre la présence d'une mutation dans le gène Oas1b et la sensibilité de la souris à l'encéphalite expérimentale par WNV. Leurs études in vitro ont démontré que les cellules murines exprimant la molécule complète Oas1b sont résistantes à l'infection par WNV. Une équipe des USA a retrouvé cette résistance in</p>

vivo à l'infection par le virus de la fièvre jaune. L'IMFH en collaboration avec le groupe de recherche dirigé par le Dr SAKUNTABHAI a montré qu'OAS3 avait une activité anti-arbovirale, capable de bloquer la réplication du CHIKV dans les cellules humaines selon un mécanisme indépendant de la RNase L. Un variant génétique, présent à une fréquence allélique de 2% parmi les caucasiennes, produit une OAS3 délétée à 20%. Cette molécule tronquée reste capable d'inhiber la réplication du CHIKV mais son efficacité antivirale est atténuée. Ceci soulève la question de l'implication du polymorphisme génétique du gène OAS3 dans la sensibilité humaine à l'infection par CHIKV. Dr LIN de l'IBS à Taiwan a étudié l'effet antiviral de chacune des OAS humaines avec une attention particulière au DENV du sérotype 2 (DENV2). Une inhibition de la réplication du DENV2 a été observée pour les OAS1 p42, OAS1 p46 et OAS3. A la différence de ce qui est observé avec CHIKV, l'activité RNase L paraît essentielle dans l'action inhibitrice des OAS contre DENV-2. Dr LIN a démontré que la RNase L est activée par les molécules OAS1 p42, OAS1 p46 et OAS3 dans les cellules infectées par DENV-2, contribuant ainsi dans le système de défense antivirale et la sévérité de l'infection par DENV. La famille des gènes OAS humains est impliquée dans le risque infectieux chez les individus infectés par WNV. L'allèle « A » d'une mutation du gène OAS1, qui génère les isoformes p48 et p52 mais pas p46, est un facteur de risque lors de l'infection initiale par WNV. Cette observation conforte la notion que seules les isoformes OAS1 p42/46 manifestent une activité antivirale contre DENV-2 contribuant ainsi à la défense de l'hôte contre l'infection virale. La compréhension des mécanismes à la base de la modulation des activités antivirales parmi les membres de la famille des gènes OAS réclame une étude approfondie. Nous proposons, avec une équipe pluridisciplinaire, de promouvoir l'étude du rôle protecteur de l'OAS dans l'infection par DENV, JEV & CHIKV.

Partenaires

Institut Pasteur Unité Pathogénies Virales
Institut Pasteur Unité Interactions Moléculaires Flavivirus-Hôtes
Institut Pasteur Unit of Molecular Prevention and Therapy of Human Diseases
National Defense Medical Center Institute of Biomedical Sciences (Taiwan)

Coordinateur

Anavaj Sakuntabhai - Institut Pasteur Unité Pathogénies Virales
anavaj@pasteur.fr

Aide de l'ANR 206 200 €

Début et durée 01/01/2011 - 36 mois

Référence ANR-10-INTB-1601

Titre du projet

Legumics – Utilisation de mutants d'insertion pour l'étude du développement des racines et des nodosités symbiotiques chez *Medicago truncatula*

Résumé

Les plantes légumineuses sont utilisées en agriculture parce qu'elles représentent des sources de protéines pour l'alimentation humaine et animale. Dans certains pays elles représentent même la source principale de protéines. Ce contenu élevé en protéines résulte de l'établissement d'une symbiose au niveau des racines avec des bactéries fixatrices d'azote. L'interaction symbiotique entre les rhizobia et les plantes légumineuses s'établit quand la ressource en azote assimilable du sol est limitée et conduit à la formation d'un organe racinaire appelé la nodosité au sein duquel les rhizobia fixent l'azote atmosphérique. Les plantes légumineuses ont aussi développées des stratégies spécifiques pour adapter leurs structures racinaires aux contraintes nutritives du sol. Ces mécanismes semblent différents de ceux décrits chez *Arabidopsis* et suggèrent que la formation des nodosités et des racines latérales partagent des mécanismes de contrôle affectant le système racinaire en entier en réponse à divers stimuli de l'environnement. L'utilisation des légumineuses en agriculture nécessite donc de mieux comprendre différents aspects de leur développement, comme l'interaction symbiotique permettant de réduire les quantités d'intrants azotés utilisés en agriculture, mais aussi les mécanismes contrôlant l'architecture racinaire et donc l'accès aux minéraux. Les organismes modèles sont des outils puissants pour répondre aux questions biologiques plus difficiles à étudier en utilisant les plantes cultivées. *Medicago truncatula* est reconnu par la communauté internationale comme un bon modèle pour les légumineuses en raison de la faible taille de son génome, de son cycle de vie court et de l'ensemble des ressources et outils génomiques développées pour cette plante. Nous savons de plus, que ces ressources et outils sont transposables aux légumineuses cultivées comme la Luzerne, la vesce et le petit pois, en raison de la ressemblance structurale de leurs génomes. Les données obtenues chez cette plante sont donc directement applicables chez les légumineuses cultivées. L'utilisation des collections de mutants d'insertion s'est révélée essentielle pour étudier la fonction des gènes nécessaires au développement mais aussi aux réponses adaptées des plantes à leur environnement. Par exemple, chez *Arabidopsis*, la mise à disposition grâce aux

bases de données des séquences des sites d'insertion du T-DNA des collections de mutants d'insertion a représenté un outil très important pour la communauté et a largement participé au développement de cette plante comme modèle. Une collection de mutants d'insertion, basée sur l'utilisation des retrotransposons Tnt1 de tabac et MERE1 de Medicago, a été développée au cours du projet EU GLIP (www.eugrainlegumes.org) en parallèle de la collection Tnt1 développée à la Noble foundation (<http://bioinfo4.noble.org/mutant/>). Dans le cas de la collection Européenne, seule la construction de la collection a été financée, malgré le très grand intérêt que représente cette ressource pour la communauté. Le but de ce projet ANR Franco/Hongrois est de continuer le développement et l'utilisation de cette ressource développée pour Medicago dans le cadre du projet Européen GLIP. Nous proposons d'utiliser la collection de mutants d'insertion construite dans le cadre de ce projet pour : i) développer un protocole de séquençage à haut débit des sites d'insertion des retrotransposons de la collection, ii) utiliser cette technologie pour séquencer une large partie des sites d'insertion de la collection, iii) faire un crible génétique de cette collection pour rechercher de nouveaux mutants symbiotiques et d'architecture racinaire, iv) utiliser les données de séquençage pour identifier les gènes étiquetés dans les mutants d'intérêt et v) caractériser au niveau moléculaire, physiologique et cellulaire certains de ces mutants.

Partenaires

CNRS Institut des Sciences du Végétal
CNRS Institut des Sciences du Végétal
Agricultural Biotechnology Center (Hongrie)
Biological Research Center Institute of Genetics Medicago
Genetics Group (Hongrie)
Bay Zoltán Foundation for Applied Research Institute of
Plant Genomics, Human Biotechnology and Bioenergy
(BAYGEN) (Hongrie)

Coordinateur

Pascal Ratet - CNRS Institut des Sciences du Végétal
Pascal.Ratet@isv.cnrs-gif.fr

Aide de l'ANR

389 210 €

Début et durée

01/01/2011 - 36 mois

Référence

ANR-10-INTB-1602