



"GÉNOMIQUE FONCTIONNELLE DU VIRUS DE LA PSEUDORAGE CHEZ LE COCHON : UN MODÈLE POUR LES ÉTUDES D'INTERACTION HÔTE-PATHOGÈNE" PAR NADA MAHJOUB

Discipline: Génétique Cellulaire et Moléculaire

Le mercredi 13 mai 2015 à 13h30

INRA

Bâtiment 230 - Salle 271

Allée de Vilvert

78352 Jouy-en-Josas

Résumé

La maladie d'Aujeszky est une maladie des suidés sauvages et domestiques causée par le virus de la pseudoragage (PrV). Les microARN (miARN) sont impliqués dans la régulation de l'expression des gènes ; ils existent chez tous les métazoaires et sont aussi exprimés par plusieurs virus, surtout par les herpesvirus. Le génome du PrV code pour 11 miARN localisés dans le locus LAT (Latency Associated).

L'objectif principal de cette étude a été d'explorer le rôle des miARN du PrV dans l'établissement et le maintien de la latence virale.

L'étude a été conduite en utilisant un clone du PrV délété d'un cluster de neuf gènes miARN (M) et un clone WT (wild type). Nous avons conduit une infection expérimentale

in vivo et analysé le transcriptome des ganglions trigeminés (par RNA-seq et Small RNA-seq) pendant la latence établie. Nous avons détecté tous les miARN du PrV dans les ganglions des animaux infectés par WT et trouvé que chez les animaux infectés par le M la réponse de l'hôte était altérée.

Nous avons utilisé une lignée cellulaire neuronale porcine pour valider une partie des interactions prédites entre trois miARN du PrV et les gènes cibles du porc par une approche de génomique fonctionnelle combinée. Nous avons estimé l'enrichissement de trois miARN et de leurs cibles au sein des complexes RISC (Induced Silencing Complex) lors de l'infection avec le virus M et WT et à la suite de miARN mimic, et aussi réalisé des essais de luciférase. L'interaction prv-miR-LLT1 : LTC4S (leukotriene synthase C4) a été validée par toutes les approches utilisées. LTC4S est ciblé par PRV-miR-LLT1 pendant la réplication dans des cellules neuronale et probablement aussi pendant la latence in vivo.

Abstract

The Pseudorabies virus (PrV) is the etiological agent of Aujeszky's disease. MicroRNAs (miRNAs) regulate gene expression post-transcriptionally. They are expressed by all metazoans but also by various viruses, most of them herpesviruses. PrV encodes 11 miRNAs located into the locus of LAT (Latency Associated locus).

The main aim of my PhD thesis was to explore the role of PrV miRNAs in the establishment and maintenance of PrV latency.

We used a mutant (M) PrV clone depleted of a cluster of nine miRNA genes and a wild type (WT) PrV clone. We carried out an experimental infection in vivo and performed deep sequencing profiling of the transcriptome (RNA-seq and Small RNA-seq) of porcine trigeminal ganglia during established latency. We found all known PrV miRNAs expressed in ganglia of animals infected by the WT, and that the pro-inflammatory response was altered in animals infected by the M.

We used a porcine neuroblast cell line to validate a part of the predicted interactions between three PrV miRNAs and host target genes by a combined functional genomics approach. We estimated the relative enrichment of miRNAs and target transcripts in RNA bound to the RNA - Induced Silencing Complex (RISC) upon infection with the M and WT PrV and after transfection miRNA mimics, and carried out luciferase assays. The prv-mir-LLT1: LTC4S (leukotriene C4 synthase) interaction was validated by all methods. LTC4S, an enzyme of the lipoxygenase pathway is thus targeted by prv-miR-LLT1 during PrV replication in neuronal cells, and probably during latency in vivo.

Monsieur Jean-François Vautherot, Directeur de Recherche, INRA, Nouzilly –
Rapporteur

Monsieur Bernard Delmas, Directeur de Recherche, INRA, Jouy-en-Josas –
Rapporteur

Madame Elisabetta Giuffra, Directrice de Recherche, INRA, Jouy-en-Josas –
Directrice de thèse

Monsieur Bernard Mignotte, Professeur des Universités, Université Versailles
Saint-Quentin-en-Yvelines – Examineur

Madame Hélène Jammes, Directrice de recherche, INRA, Jouy-en-Josas -
Examineur

Contact : DREDVal Service FED : theses@uvsq.fr