

Résumé du projet soumis à l'appel d'offres 2003

Titre du projet (*maximum 2 lignes*) :

Génomique fonctionnelle des interactions virus-cellule et réponse immunitaire innée chez le porc : étude dans plusieurs modèles cellulaires infectés par un Herpèsvirus

Résumé du projet

(contextes socio-économique et scientifique, objectifs, programme des travaux, organisation en tâches) :

Ce projet générique et transversal est centré sur l'analyse génomique fonctionnelle du transcriptome régulé en réponse à l'infection virale dans le modèle porc. Il est coordonné par une équipe de virologistes moléculaires du porc (équipe VIM) à laquelle est associée une équipe de généticiens moléculaires spécialisée dans la cartographie des génomes et l'étude du Complexe Majeur d'Histocompatibilité (CMH) porcine (équipe LREG) et une équipe de généticiens quantitatifs spécialisés dans l'analyse de la variabilité génétique des caractères complexes et l'amélioration génétique du porc (équipe SGQA).

La connaissance des gènes dont l'expression est modifiée en réponse aux agents pathogènes, plus particulièrement aux virus revêt une grande importance médicale et peut tirer un parti considérable des nouvelles technologies de la génomique fonctionnelle. Cette approche peut conduire à l'identification de nouvelles protéines impliquées dans les mécanismes de défense, à l'identification de circuits de régulation et de nouvelles voies de signalisation viro-induites, à une meilleure compréhension de la physiopathologie de l'infection virale au niveau de la cellule, et à la découverte de nouveaux gènes impliqués dans la résistance aux maladies.

Ce projet se propose d'analyser dans le modèle porcine les modifications physiopathologiques induites dans la cellule en réponse à l'infection virale par l'analyse globale des modifications viro-induites du transcriptome cellulaire. Il fera largement appel aux moyens et aux outils récemment développés par l'INRA dans le cadre du programme AGENAE. Cette étude se focalisera plus spécialement sur les mécanismes de la réponse innée. Le modèle viral choisi est l'Herpèsvirus responsable chez le porc de la maladie d'Aujeszky (virus de la Pseudoréplique ou PrV, virus à génome ADN). Deux modèles cellulaires, jouant *in vivo* un rôle clé dans la réponse immunitaire innée antivirale, seront analysés *in vitro* : la cellule épithéliale polarisée et la cellule dendritique (CD) immature (cellule présentatrice d'antigènes). Les CD immature seront différenciées *in vitro* en traitant pendant quelques jours des monocytes sanguins de porc par deux cytokines porcines recombinantes, le Granulocyte Macrophage Colony Stimulating Factor (GM-CSF) et l'interleukine (IL)-4. L'analyse transcriptomique sera menée à l'aide d'un microarray générique porcine construit dans le cadre du programme AGENAE et contenant, entre autres, des gènes déjà connus pour être impliqués dans la biologie des épithéliums et la réponse innée. L'analyse de l'expression des gènes cellulaires sera associée à une analyse globale de l'expression des gènes viraux au cours du cycle viral dans le but de mettre en évidence des interactions possibles entre les deux programmes d'expression génique. D'autre part, une étude globale de la transcription de tous les gènes du CMH porcine en réponse à un stimulus viral dans les deux types cellulaires sera menée à l'aide d'un macroréseau spécialement dédié dans le but de faire apparaître des niveaux de régulation transcriptionnelle au niveau de ce complexe d'environ 300 gènes. En utilisant les mêmes outils d'analyse transcriptomique, nous analyserons la variabilité individuelle de la réponse immunitaire innée en rapport avec le rôle potentiellement néfaste de la sélection (appliquée à l'amélioration des performances économiques des animaux) sur la résistance des animaux aux infections. Cette étude sera menée sur deux échantillons d'individus, l'un issu de reproducteurs ayant subi ce processus de sélection, l'autre issu de reproducteurs ne l'ayant pas subi. Le transcriptome viro-régulé sera analysé sur une quinzaine d'animaux de chaque groupe à l'aide du modèle CD immature différenciées *in vitro*. Nous tenterons de faire apparaître des différences de profil d'expression interprétables d'une manière générale en terme de sensibilité ou de résistance aux agents infectieux.

L'équipe VIM (coordonnatrice) assurera la mise en œuvre des systèmes cellulaires (en particulier le système de différenciation des CD immatures) et leur infection par le PrV, ainsi que la construction du macroréseau viral. L'équipe LREG construira le macroréseau regroupant les gènes du CMH porcine. Les expériences d'hybridation sur macro et microréseaux seront effectuées conjointement par ces deux équipes qui demandent à cette fin le recrutement d'un stagiaire post-doctoral pour 18 mois. La production des animaux à tester sera confiée à l'équipe LGQA et l'analyse individuelle du transcriptome viro-induit sur le modèle CD immatures entamée par les équipes VIM et LREG lorsque les méthodologies auront été validées. L'analyse et l'intégration des données sera le fruit d'un travail collectif entre les trois équipes.

Résumé du projet soumis à l'appel d'offres 2003

Champ thématique (*selon la classification de l'Appel à Projets*) :
RECHERCHES GÉNÉRIQUES – AXE BIOLOGIE INTÉGRATIVE

Projet : générique

Responsable scientifique (*nom prénom*)

LEFEVRE François

Fonction et organisme (intitulé, sigle, Adresse)

Chargé de Recherche, Institut National de la Recherche Agronomique (INRA)

Unité de Virologie et d'Immunologie Moléculaires

Domaine de VILVERT, 78352 JOUY-EN-JOSAS Cedex

Tél. : 01 34 65 26 17

Fax : 01 34 65 26 21

Mel: lefevre@jouy.inra.fr

Liste des partenaires publics :

Nom des laboratoires (intitulé, sigle, nom du Directeur, nom du responsable)	Affiliations : EPST, Université...	Ville
Unité de Virologie et d'Immunologie Moléculaires (VIM), Directeur : Abdenour Benmansour Responsable : François Lefèvre	INRA	JOUY-EN-JOSAS
Laboratoire de Radiobiologie et d'Etude du Génome (LREG), Unité Mixte de Recherche INRA-CEA Directeur : Gérard Frelat Responsable : Patrick Chardon	INRA et CEA	JOUY-EN-JOSAS
Station de Génétique Quantitative et Appliquée (SGQA) Directeur : Jean-Pierre Bidanel Responsable : Jean-Pierre Bidanel	INRA	JOUY-EN-JOSAS

Liste des partenaires privés :

Nom des Entreprises, nom du responsable	Ville

Durée du projet : 36 mois