

Acronyme du projet (*bref nom de 12 caractères au plus*) **Vecteur shRNA**

Champ thématique (*selon la classification de l'Appel à Projets*) : **Approches innovantes**

Projet : **X générique**

Titre du projet

Mise au point de vecteurs permettant une expression fiable de gènes codant pour des ARN interférents et des microARN

Coordinateur du projet (*Nom, prénom, fonction, organisme*)

LE PROVOST Fabienne, CR1, INRA

Résumé du projet (*maximum 3000 caractères, en français et en anglais*)

(contextes socio-économique et scientifique, objectifs, programme des travaux, résultats attendus) :

Des études récentes ont montré que les petits ARN double brin de 21-23 pb appelés ARN interférents (siRNA) activent un système cellulaire qui induit une destruction sélective des ARN ayant une séquence exactement complémentaire. Les microARN (miRNA) sont des petits ARN codés par les génomes et qui inhibent spécifiquement la traduction des ARNm en formant des hybrides imparfaits avec la région 3'UTR. Les miRNA exercent par ailleurs un effet de type siRNA lorsqu'ils forment des hybrides parfaits avec leurs ARNm cibles. Les siRNA et miRNA regroupés sous le nom de petits ARN formant des boucles en épingle à cheveux (shRNA) peuvent donc être exploités pour inhiber spécifiquement l'expression de gènes cellulaires ou viraux au niveau de leurs ARNm. Ces propriétés des shRNA sont exploitées de manière systématique chez des invertébrés modèles ainsi que chez les végétaux pour étudier les fonctions des gènes et pour créer des lignées de plantes résistantes à des virus. Ces opérations globalement appelées knockdown par analogie avec le knockout des gènes ne peuvent devenir effectives chez les animaux transgéniques que si les gènes codant pour les shRNA sont exprimés de manière appropriée à l'état de transgènes. En effet, les vecteurs existants permettant l'expression des shRNA sont basés sur l'action de promoteurs de type RNA polymérase III qui sont actifs dans des cellules transfectées ainsi que dans des clones cellulaires stables mais non chez les animaux vertébrés transgéniques. D'autre part, l'introduction de tels vecteurs dans des lentivirus ne permet pas un contrôle tissulaire de leur expression. L'utilisation de longs ARNs double brin induit par ailleurs des interférons cytotoxiques.

Ce projet se propose de définir des vecteurs permettant une expression fiable et contrôlée des gènes codant pour des shRNA (siRNA et miRNA) chez les animaux transgéniques. Les modèles utilisés pour cette étude sont des cellules en culture ainsi que des souris et des lapins transgéniques. Les gènes ciblés sont 1°) le gène Prnp allèle VRQ du mouton impliqué dans la survenue de scrapie ; 2°) le gène IE du virus responsable de la maladie d'Aujeszky chez le porc ; 3°) le génome du virus de la septicémie hémorragique du lapin (RHDV). Des siRNA capables d'inhiber leurs gènes cibles ont été définis dans les 3 laboratoires à l'aide de cellules transfectées par des vecteurs contenant des promoteurs de type RNA polymérase III. La transposition aux animaux transgéniques dépend donc de la mise au point de vecteurs d'expression appropriés.

Mots-clés (5 maximum) :

Interférence aux ARN, microARN, transgénèse, vecteurs

NOM et prénom du coordinateur de projet :
LE PROVOST Fabienne

Titre : Chargée de Recherches 1^{ère} classe

Tel : 01 34 65 25 69

Fax : 01 34 65 24 78

e-mail : Fabienne.LeProvost@jouy.inra.fr

Institution (Unité), Entreprise :

Laboratoire de Génétique biochimique et Cytogénétique
INRA

Adresse :

Batiment 440

Domaine de Vilvert

78 350 Jouy-en-Josas

Nom du Directeur de l'unité Edmond Paul CRIBIU

EQUIPES PARTENAIRES :

Equipe N°	Nom Prénom du correspondant principal par équipe	Titre ou grade, Appartenance	Directeur d'unité	Adresse
1	LE PROVOST Fabienne	CR1	Edmond-Paul CRIBIU	Laboratoire de Génétique biochimique et Cytogénétique INRA, Bat 440, Domaine de Vilvert, 78 350 Jouy-en-Josas
2	HOUDEBINE Louis- Marie	DR1	Jean-Paul RENARD	Laboratoire de Biologie du Développement et Reproduction, INRA, Bat 440, Domaine de Vilvert, 78 350 Jouy-en-Josas
3	LAUDE Hubert	DR1	Abdenour BENMANSOU R	Laboratoire de Virologie et Immunologie Moléculaire INRA, Bat 440, Domaine de Vilvert, 78 350 Jouy-en-Josas