

Immunité antivirale chez la drosophile

Delphine Galiana-Arnoux*, Safia Deddouche et Jean-Luc Imler

UPR9022 CNRS Institut de Biologie Moléculaire et Cellulaire 15, rue René Descartes F-67000 Strasbourg

Auteur correspondant : Jean-Luc Imler, JL.Imler@ibmc.u-strasbg.fr

Reçu le 15 Janvier 2007

Résumé – Les maladies virales représentent une menace constante et une cause importante de mortalité à travers le monde. Nous avons développé un modèle d'étude de la réponse aux infections par les virus à ARN chez la mouche drosophile. Cet insecte représente un bon modèle pour étudier les bases génétiques de l'immunité innée, qui constitue le premier rideau de défense contre les infections chez tous les animaux. Nous avons montré que les infections virales déclenchent chez la drosophile une réponse différente des infections bactériennes ou fongiques. Nos données à l'heure actuelle indiquent que les défenses antivirales impliquent deux types de mécanismes. Nous observons d'une part l'induction d'une réponse transcriptionnelle, dépendant de la voie JAK-STAT, et conduisant à l'expression de molécules antivirales qui restent à identifier. D'autre part les ARNs viraux sont reconnus par Dicer-2 et dégradés en siRNA induisant ainsi le mécanisme d'ARN interférence, qui permet la dégradation des ARNs viraux. Il est frappant de constater que la réponse antivirale de la drosophile évoque par certains aspects la signalisation par les interférons des mammifères (voie JAK-STAT) et les défenses antivirales chez les plantes (ARN interférence).

Mots clés : immunité innée / Dicer / voie JAK-STAT / ARN interférence

Abstract – Antiviral immunity in drosophila.

Viral diseases represent a constant threat and an important cause of mortality worldwide. We have developed a model to study the response to RNA virus infection in the fruit-fly drosophila. This insect is a good model to study the genetic bases of innate immunity, which constitutes the first level of host-defense in animals. We have shown that viral infection in drosophila triggers a response different from that to bacterial or fungal infections. Our data at this stage point to the existence of at least two types of antiviral defense mechanisms. On one hand, viral infection triggers a JAK-STAT dependent transcriptional response that leads to the expression of antiviral molecules that remain to be characterized. On the other hand, viral RNAs are recognized by Dicer-2 and degraded in siRNAs, thus inducing RNA interference and degradation of viral RNAs. Strikingly, the drosophila antiviral response evokes by some aspects the interferon response in mammals (JAK-STAT pathway) and antiviral defenses in plants (RNA interference).

Introduction

Les métazoaires, soumis à de nombreux types d'infections, bactériennes, fongiques ou virales, ont développé

des mécanismes de défense efficaces contre ces micro-organismes. Le mécanisme de défense commun à tous les animaux correspond à l'immunité innée, soit la première ligne de défense mise en place après une infection microbienne. Chez les mammifères, l'immunité innée coexiste avec l'immunité adaptative, qui implique des récepteurs spécifiques de l'antigène exprimés par les lymphocytes T ou B. L'immunité innée est basée sur la reconnaissance de molécules

* Equipe de Génomique Evolutive des Vertébrés Institut de Génomique Fonctionnelle de Lyon UMR 5242 CNRS/INRA/Université Claude Bernard Lyon I/ENS ENS de Lyon, 46, allée d'Italie F-69364 Lyon cédex 07

spécifiques à une large classe de micro-organismes (les PAMPs pour « *pathogen associated molecular patterns* ») par des récepteurs particuliers, les PRRs (pour « *pattern recognition receptors* »). L'activation de ces récepteurs par l'agent pathogène peut aboutir à plusieurs types de réponse comme la phagocytose, la production de molécules effectrices ou l'induction de cytokines et de molécules de costimulation qui vont réguler l'immunité adaptative. (Janeway, 1989).

La drosophile est un bon modèle pour l'étude des mécanismes moléculaires qui contrôlent l'immunité innée; d'une part parce qu'elle ne possède pas de système immunitaire adaptatif, ce qui simplifie l'analyse, et d'autre part en raison de son génome séquencé, de l'existence de techniques efficaces de transgénèse, et bien entendu de la puissance de l'approche génétique. Les tests menés ces dernières années ont révélé que les mécanismes de défense de la drosophile mettent en jeu des voies de signalisation conservées au cours de l'évolution, ce qui légitime son utilisation en tant qu'animal modèle (Hoffmann, 2003). Nous résumerons ci-dessous l'état de nos connaissances sur le contrôle des infections bactériennes et fongiques. Nous décrirons ensuite les résultats obtenus au cours des trois dernières années sur la réponse aux infections virales. Ces expériences mettent en avant l'importance du rôle de l'interférence ARN dans le contrôle des infections par les virus à ARN.

La réponse immunitaire de la drosophile : quelques rappels

L'aspect de l'immunité innée le mieux caractérisé chez la drosophile correspond à la sécrétion, dans l'hémolymphe, de peptides anti-microbiens par le corps gras, un équivalent du foie des mammifères. L'expression des gènes codant ces peptides est induite à la suite d'une infection bactérienne ou fongique. Les peptides antimicrobiens sont assimilables aux molécules effectrices de l'immunité innée, que l'on retrouve à tous les niveaux de l'évolution : des plantes (avec les thionines et les défensines par exemple) jusqu'aux mammifères (défensines α et β , cathélicidines). Chez la drosophile, sept classes de peptides antimicrobiens de nature cationique, ont été décrites (Imler & Bulet, 2005). En fonction de leur cible, on peut les diviser en trois groupes : les peptides antimicrobiens actifs contre les champignons (comme la Drosomycine), ceux actifs contre les bactéries à Gram positif (comme les Défensines) et enfin les peptides antimicrobiens actifs contre les bactéries à Gram négatif (comme la Diptéricine par exemple).

L'expression des gènes codant les peptides antimicrobiens est régulée par deux facteurs de transcription, Dif et Relish, qui appartiennent tous deux à la

famille NF- κ B. L'activation de ces facteurs de transcription est sous le contrôle de deux voies de signalisation, Toll pour le facteur Dif et IMD (pour « *Immune Deficiency* ») pour Relish. Les champignons et la majorité des bactéries à Gram positif activent la voie Toll, alors que la voie IMD est activée suite à une infection par des bactéries à Gram négatif. La reconnaissance des bactéries à Gram-positif se fait dans l'hémolymphe, par des récepteurs sécrétés. Deux d'entre eux, PGRP-SA et PGRP-SD, appartiennent à la famille des protéines de reconnaissance des peptidoglycanes (PGRP) (Royet *et al.*, 2005). Les champignons sont quant à eux reconnus par GGBP-3, qui appartient à une autre famille de récepteur, les GGBP (*Gram-Negative Binding Proteins*) aussi connus sous le nom de β GRP (*β -Glucan Recognition Proteins*). Un autre membre de cette famille, GGBP-1, participe également à la reconnaissance des bactéries à Gram positif en collaboration avec les PGRPs (Ferrandon *et al.*, 2004). Les PGRPs et les GGBPs activent ensuite, par un mécanisme qui reste à déterminer, une cascade de sérine-protéases, qui aboutit à la maturation protéolytique d'une cytokine apparentée aux neutrophines, Spätzle, qui fixe et active le récepteur Toll (Weber *et al.*, 2003). Toll active alors une voie de signalisation similaire à celle du récepteur de l'interleukine-1 des mammifères, qui va conduire à l'activation de Dif, et à la synthèse de peptides antimicrobiens. Contrairement, aux bactéries à Gram positif et aux champignons, qui sont reconnus par des récepteurs sécrétés, les bactéries à Gram négatif sont reconnues par un récepteur transmembranaire. Il est intéressant de noter que ce récepteur, PGRP-LC, est également un membre de la famille des PGRPs. Son domaine intracytoplasmique interagit avec l'adaptateur au « domaine de mort » Imd, et active une voie de signalisation rappelant par de multiples aspects la voie du TNF des mammifères (Georgel *et al.*, 2001). Cette voie de signalisation aboutit à l'activation du facteur de transcription Relish, qui régule l'expression de plusieurs gènes codant des peptides antibactériens. (Hedengren *et al.*, 1999). Ainsi, la réponse aux infections bactériennes et fongiques implique deux voies de signalisation, Toll et IMD, qui ont été conservées au cours de l'évolution, et qui activent des membres spécifiques de la famille NF- κ B (Figure 1) (revue dans Hoffmann, 2003).

Parallèlement aux infections fongiques et bactériennes, les insectes en général sont également soumis à des infections virales, un sujet d'étude qui suscite un intérêt accru. Un intérêt économique dans un premier temps, si l'on considère que les infections virales causent de larges pertes de productivité dans les élevages d'abeilles ou de vers à soie. Un intérêt thérapeutique dans un second temps, les insectes pouvant être des vecteurs de maladies

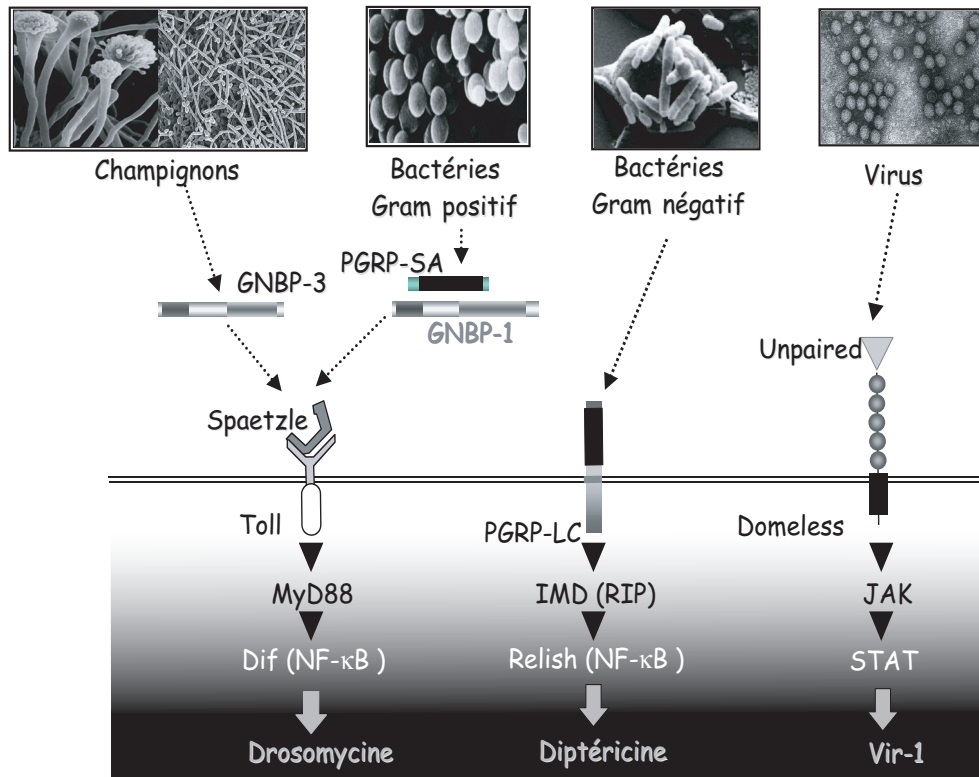


Fig. 1. Représentation schématique des voies de signalisation activées en réponse aux infections chez la drosophile. Les champignons et la plupart des bactéries à Gram positif induisent la voie Toll, qui régule, par l'intermédiaire du facteur de transcription Dif, l'expression du gène codant le peptide antifongique Drosomycine. La reconnaissance des β -glucanes de la paroi des champignons par le récepteur soluble GNBPs-3, ou celle des peptidoglycanes des bactéries à Gram positif par les deux récepteurs GNBPs-1 et PGRP-SA, induit une cascade protéolytique qui conduit à la maturation de la cytokine Spaetzle. La forme clivée de Spaetzle se fixe sur le récepteur Toll et l'active. Les bactéries à Gram négatif sont quant à elles reconnues directement par le récepteur transmembranaire PGRP-LC, qui active la voie IMD (*immune deficiency*) et mène à l'induction d'un autre membre de la famille NF- κ B, Relish, qui régule l'expression du gène codant le peptide antibactérien Diptéricine. Finalement, l'infection virale conduit à l'activation du récepteur de cytokines Domeless, et de la voie de signalisation JAK-STAT, qui régule l'induction de nombreux gènes, dont le gène marqueur *vir-1*.

virales (Mackenzie *et al.*, 2004), comme le virus de la Dengue ou plus récemment le virus Chikungunya dont la récente épidémie à l'île de la Réunion a fait couler beaucoup d'encre. La conservation au cours de l'évolution des voies de signalisation impliquées dans les réponses antibactériennes et antifongiques suggère que l'étude de l'immunité antivirale chez la drosophile pourrait conduire à une meilleure connaissance des mécanismes fondamentaux de défense antivirale chez les mammifères.

Modèles d'infection virale chez la drosophile

Il existe de nombreux types de virus, à ARN ou à ADN, susceptibles d'infecter les insectes. Certains de ces virus sont apparentés à des familles de virus infectant les vertébrés, ce qui suggère que les virus

des invertébrés et des vertébrés ont des origines communes. Peu de données existent sur les mécanismes de défense antivirale chez les insectes, surtout au regard des données concernant les mécanismes de défense antibactérienne et antifongique. On peut cependant citer l'importance de l'apoptose dans le cas d'une infection par un virus à ADN, le baculovirus AcMNPV (Lee *et al.*, 1998). Dans le but d'analyser la réponse de la drosophile à une infection virale, nous avons développé des modèles d'infection basés sur l'utilisation de trois virus à ARN : le *Drosophila C virus* (DCV), le *Flock House virus* (FHV) et le *Sindbis virus* (SINV).

Le virus C de la drosophile est le virus de drosophile le mieux caractérisé (Dostert *et al.*, 2003). La drosophile est un hôte naturel du DCV, qui est transmis de manière horizontale par contact ou ingestion. Ce petit virus (< 40nm de diamètre) non enveloppé à génome ARN simple brin positif (9300 nucléotides)

fait partie de la famille des *Dicistroviridae*, dont les membres sont capables d'infecter uniquement les invertébrés. Son génome est caractérisé par la présence de deux phases de lecture, qui codent pour deux polypeptides à maturation protéolytique. La première phase de lecture code une ARN hélicase, une protéase et une ARN polymérase ARN-dépendante, tandis que la seconde code les quatre protéines de capsid. L'injection intrathoracique de DCV induit une mortalité dose-dépendante des drosophiles. L'analyse histologique de mouches infectées montre que le virus infecte principalement le corps gras, la gaine péri-ovarienne, ainsi que la trachée et les muscles (Cherry & Perrimon, 2004; Sabatier *et al.*, 2003).

Le second virus que nous utilisons, le Flock House Virus (FHV) est un membre de la famille des *Nodaviridae*, qui peut se multiplier dans de nombreux types cellulaires, chez les insectes mais aussi les plantes ou levures. C'est également un petit virus (35nm de diamètre), non enveloppé, et possédant un génome ARN simple brin positif bipartite. L'ARN1 (3107 nucléotides) code la protéine A : une ARN polymérase ARN dépendante. L'ARN3 (387 nucléotides), produit à partir de l'ARN1 lors de la réplication virale, code pour la protéine B2, identifiée comme étant un inhibiteur puissant du mécanisme d'ARN interférence. Enfin, l'ARN2 (1400 nucléotides) code pour la protéine de capsid (Venter *et al.*, 2005). Comme dans le cas du DCV, l'injection intrathoracique de FHV induit une létalité dose-dépendante des drosophiles. L'analyse histologique de mouches infectées a permis de mettre en évidence que le site majeur de multiplication du virus correspond au corps gras. On peut également détecter des particules virales au niveau des muscles et de la trachée (Galiana-Arnoux *et al.*, 2006).

Le troisième virus, le Sindbis (SINV) est quant à lui un alphavirus appartenant à la famille des *Togaviridae*. Les alphavirus appartiennent à la famille des arbovirus (*arthropode borne virus*), qui sont transmis aux vertébrés, y compris à l'homme par des insectes hématophages, comme les moustiques. Le virus de Chikungunya qui a récemment défrayé la chronique fait partie de cette famille de virus. Le Sindbis virus fait partie des alphavirus les moins pathogènes pour l'homme, et sa réplication est principalement maintenue à travers les moustiques et les oiseaux (Strauss & Strauss, 1994). C'est un virus enveloppé à génome ARN simple brin positif. Ce génome de 11703 nucléotides code d'une part 4 protéines non structurales qui, après association avec des facteurs cellulaires, formeront l'ARN polymérase ARN dépendante nécessaire à la transcription et à la réplication du génome, et d'autre part les cinq protéines structurales nécessaires à la formation de nouveaux virions. Contrairement au DCV et au FHV,

l'injection intrathoracique de SINV ne conduit pas à la mort des drosophiles. Cependant, ce virus est capable de se multiplier chez la drosophile, et l'on détecte la présence de particules virales dans plusieurs tissus des mouches infectées. La drosophile semble donc capable de contenir l'infection par le SINV.

L'infection virale déclenche une réponse transcriptionnelle chez la drosophile

Contrairement à la forte induction de peptides antimicrobiens dans l'hémolymphe de mouches infectées par des bactéries ou des champignons, l'infection virale génère une réponse humorale discrète (Sabatier *et al.*, 2003). La drosophile réagit cependant à l'infection par le DCV, comme l'a montré une analyse globale du transcriptome à l'aide de puces à ADN. Environ 150 gènes sont induits par un facteur deux au moins 48 heures après le début de l'infection. Il est intéressant de constater que les deux tiers de ces gènes ne sont pas induits à la suite d'une infection par des bactéries ou des champignons et diffèrent des marqueurs caractéristiques des voies de signalisation déjà connues (Dostert *et al.*, 2005). Parmi ces gènes spécifiquement induits après une infection virale, un nouveau transcrit a été identifié : *vir-1* pour « *virus induced RNA-1* ». *vir-1* est fortement induit lors des infections par le DCV ou le FHV mais pas par des infections bactériennes ou fongiques. Ce gène est donc un bon marqueur de la réponse de la drosophile aux infections virales. Afin d'élucider le mécanisme d'induction de *vir-1*, nous avons cloné 2,5 kb de séquences 5' de *vir-1* en amont d'un gène rapporteur. L'analyse de lignées transgéniques exprimant ce gène rapporteur nous a permis de montrer que ce fragment de promoteur contient un élément de réponse à l'infection virale (Figure 2).

Par délétions progressives, nous avons localisé cet élément de réponse dans un fragment de 190pb, au sein duquel un site de fixation putatif pour le facteur de transcription STAT est présent (Figure 2A). Nous avons pu montrer que ce site STAT est nécessaire à l'induction de *vir-1*. Ces expériences ont été confirmées génétiquement, puisque le gène *vir-1*, ainsi que de nombreux autres gènes induits comportant des sites de fixation pour le facteur STAT dans leur promoteur proximal, ne sont plus induits dans des mouches mutantes pour le gène *hopscotch*, qui code l'unique kinase JAK de drosophile. Nos résultats suggèrent un modèle (Figure 2B) dans lequel la réplication virale dans le corps gras induit l'expression d'une première vague de gènes, parmi lesquels celui codant une cytokine de la famille Unpaired (qui comprend trois membres). Cette cytokine active ensuite son récepteur Domeless, un orthologue de la sous-unité gp130 du récepteur de

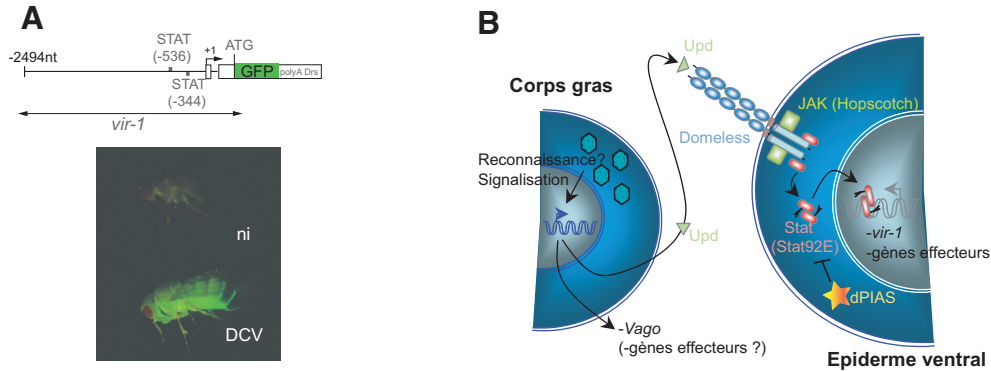


Fig. 2. L'infection par le DCV déclenche une réponse dépendante de la voie JAK-STAT. A : le promoteur du gène *vir-1* contient un élément de réponse à l'infection virale : une drosophile transgénique exprimant le gène rapporteur de la GFP sous le contrôle du promoteur *vir-1* devient fluorescente 48h après infection par le DCV. La dissection du promoteur du gène a permis de montrer que cet élément de réponse à l'infection virale coïncide avec un site de fixation pour le facteur de transcription STAT. B : un modèle pour l'induction de la réponse antivirale chez la drosophile. La reconnaissance de l'infection dans les cellules du corps gras conduit à l'induction de certains gènes, dont le gène *Vago*, et celui d'une cytokine de la famille Unpaired (Upd). Upd active le récepteur Domeless et conduit à l'expression de *vir-1* et plusieurs autres gènes au niveau des cellules de l'épiderme ventral.

l'interleukine-6 chez les mammifères. Domeless active alors la voie JAK/STAT aboutissant à l'expression de *vir-1* et d'autres gènes dans les cellules de l'épiderme ventral de la drosophile. De plus, les mutants *hops-cotch* contiennent une charge virale supérieure aux mouches sauvages, et résistent moins bien à l'infection, suggérant que certains des gènes induits codent des molécules antivirales (Dostert *et al.*, 2005). L'identification de ces molécules et la caractérisation de leur mode d'action est à présent une de nos priorités. A ce stade, un seul mécanisme effecteur antiviral a été identifié chez la drosophile, il s'agit de l'ARN interférence.

L'interférence ARN, un mécanisme effecteur indispensable pour combattre les infections virales chez la drosophile

De nombreux travaux ont mis en évidence l'implication de l'interférence ARN lors de la réponse antivirale chez les plantes. Le mécanisme d'interférence ARN est conservé chez de nombreux organismes eucaryotes, des plantes aux mammifères, en passant par le nématode ou la drosophile. Ce mécanisme permet d'inhiber l'expression des gènes par l'intermédiaire de petites molécules guides de 21 à 25 nucléotides : les siRNAs (pour « *small interfering RNAs* ») et les miRNAs (pour « *microRNAs* »). Chez la drosophile, l'enzyme Dicer-1 permet l'obtention des miRNAs à partir de précurseurs produits par la cellule, alors que c'est l'enzyme Dicer-2 qui génère les siRNAs à partir de molécules d'ARN double brin. Ces petits ARNs sont ensuite pris en charge par le complexe multi-protéique RISC (pour « *RNA-induced silencing complex* ») qui va

permettre l'inhibition spécifique des gènes, soit en induisant la dégradation de l'ARN messager correspondant (dans le cas des siRNAs), soit en bloquant sa traduction (dans le cas des miRNAs). Il a récemment été montré que trois facteurs impliqués dans l'interférence par les siARNs, Dicer-2, R2D2 et Argonaute (Ago)-2, jouent un rôle important dans la réponse antivirale de la drosophile (Galiana-Arnoux *et al.*, 2006; Wang *et al.*, 2006; van Rij *et al.*, 2006).

Le virus du FHV, qui code une protéine (B2), inhibant l'interférence ARN *in vitro* et *ex vivo* (Li *et al.*, 2002; Chao *et al.*, 2005), s'est avéré être un excellent modèle pour démontrer l'importance de l'interférence ARN dans le contrôle des infections virales *in vivo* chez les insectes. En étudiant des mouches transgéniques exprimant l'ARN1 du FHV (ainsi que l'ARN3 sous génomique) sauvage (FHV-ARN1) ou portant deux mutations ponctuelles inactivant B2 (FHV-ARN1 Δ B2), nous avons montré que l'accumulation d'ARN viral était strictement dépendante de la présence de la protéine B2 fonctionnelle : en absence de ce facteur, nous n'observons pas d'ARN viral dans les mouches, alors qu'en sa présence on observe une accumulation rapide et très importante d'ARN. La réplication du FHV passant par un intermédiaire double brin d'ARN, ce résultat suggère que Dicer-2 reconnaît la forme répliquative de l'ARN viral, et la clive pour générer des siRNA. Ce mécanisme a pu être prouvé en plaçant le transgène FHV-ARN1 Δ B2 dans un contexte mutant pour *Dicer-2* et en montrant que dans ces conditions l'ARN1 muté (FHV-ARN1 Δ B2) s'accumule dans les mouches (Figure 3A) (Galiana-Arnoux *et al.*, 2006). Des résultats similaires ont été obtenus par le groupe de S.W.Ding, qui a montré une

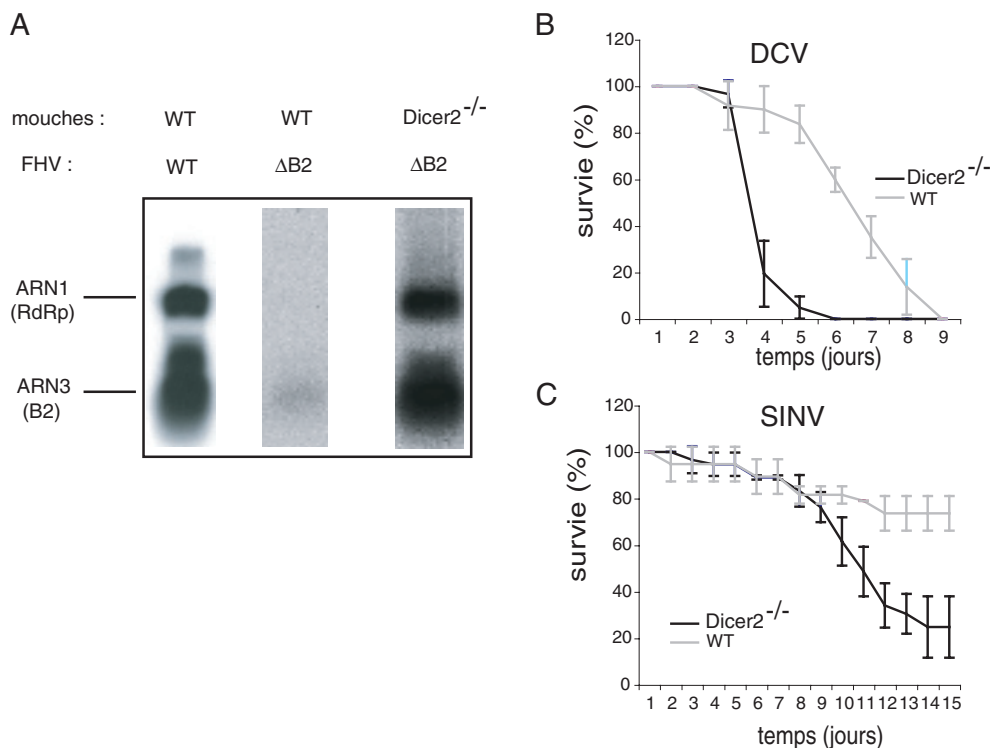


Fig. 3. Contrôle des infections virales par l'interférence ARN chez la drosophile. A : analyse par northern blot de mouches sauvages (WT) ou mutantes pour le gène *dicer-2* exprimant un transgène correspondant à la version sauvage de l'ARN1 du FHV, ou à une version mutée dans laquelle la protéine B2 n'est pas exprimée (Δ B2). La position de l'ARN1 et de l'ARN 3 sous-génomique est indiquée. L'expérience montre que la protéine B2 est nécessaire pour permettre l'accumulation d'ARN viral dans les mouches. Lorsque Dicer-2 n'est pas fonctionnel, l'ARN viral peut s'accumuler même en absence de B2. B, C : les mouches mutantes pour le gène *dicer-2* sont très sensibles à l'infection par deux autres virus à ARN, le DCV (B) et le virus de Sindbis (C). Trois groupes de 15 mouches sauvages ou mutantes ont été infectées avec une dose identique de virus, et leur survie a été analysée au cours du temps.

accumulation de l'ARN viral du FHV en absence de B2 dans des embryons de drosophiles déficientes en Ago2 ou R2D2 (Wang *et al.*, 2006).

Comme on pouvait s'y attendre, le rôle de Dicer-2 ne se limite pas au contrôle de l'infection par le FHV : en effet les mouches mutantes pour *Dicer-2* sont également sensibles aux infections par le DCV et le SINV (Figure 3B, C). Le résultat est particulièrement frappant dans le cas de ce dernier virus, puisque des mouches sauvages résistent à l'infection, alors que 80% des mouches mutantes succombent à une même dose de virus en quelques jours. Les mouches mutantes *Dicer-2* résistent par contre normalement aux infections par les bactéries et les champignons, indiquant que l'interférence ARN intervient spécifiquement dans la défense antivirale (Galiana-Arnoux *et al.*, 2006). L'importance du rôle antiviral de l'interférence ARN est soulignée par le fait qu'hormis le FHV deux autres virus d'insectes au moins, le *Cricket Paralysis virus* (CrPV) et le DCV, codent un inhibiteur du RNAi. Curieusement, ces deux inhibiteurs ne partagent aucune homologie de séquence, bien que le DCV et la

CrPV appartiennent tous deux à la famille des *Dicistroviridae* et partagent plus de 55% d'identité de séquence sur l'ensemble de leur génome (Wang *et al.*, 2006; van Rij *et al.*, 2006). L'étude détaillée du mode d'action de ces inhibiteurs permettra sans doute de mieux comprendre le fonctionnement du mécanisme d'interférence ARN chez la drosophile. En outre, le groupe de Little a montré que les gènes impliqués dans l'extinction par les siARNs, *Dicer-2*, *Ago2*, et *r2d2*, présentent un taux de polymorphisme extrêmement élevé par rapport au reste du génome (notamment par rapport à *Dicer-1*, *Ago1*, et *r3d1* qui régulent les miARNs), et sont soumis à une évolution rapide (Obbard *et al.*, 2006). Une telle caractéristique est généralement observée pour des gènes impliqués dans les interactions avec le monde infectieux.

Conclusions et perspectives

Nos travaux, ainsi que ceux d'autres groupes, ont permis de mettre en évidence le fait qu'au moins deux

voies sont nécessaires à la drosophile pour combattre efficacement les infections virales. D'une part, une voie impliquant la production de cytokines et l'activation de la signalisation JAK/STAT, qui régule l'induction d'un certain nombre de gènes, dont le marqueur *vir-1*. D'autre part, l'interférence ARN médiée par Dicer-2, Ago2 et R2D2. Un enjeu important dans les mois à venir sera de comprendre comment ces deux types de défense sont intégrés pour contrer l'infection virale. Nos résultats indiquent clairement que Dicer-2 reconnaît l'ARN viral double brin et se comporte donc comme un récepteur de l'immunité innée. On peut se demander si Dicer-2 est impliqué dans l'induction de la cytokine qui active la voie JAK/STAT, ou s'il existe un autre récepteur reconnaissant les ARNs viraux dans les cellules infectées. Un autre enjeu important sera d'identifier les autres mécanismes effecteurs impliqués dans le contrôle de l'infection virale. Finalement, il sera à terme intéressant d'étendre ces études aux virus à ADN qui infectent les insectes.

Ce travail a été financé par le CNRS, et une ACI (programme de recherche en microbiologie).

Références

- Chao J.A., Lee J.H., Chapados B.R., Debler E.W., Schneemann A. & Williamson J.R., Dual modes of RNA-silencing suppression by Flock House virus protein B2. *Nat Struct Mol Biol*, 2005, 12, 952-957
- Cherry S. & Perrimon N., Entry is a rate-limiting step for viral infection in a *Drosophila melanogaster* model of pathogenesis. *Nat Immunol*, 2004, 5, 81-7.
- Dostert C., Jouanguy E., Eidenschenk C., Jousset F.X., Zachary D. & Imler J.L., Ultrastructure et distribution tissulaire du virus C de la drosophile (DCV). *Virologie*, 2003, 7, 453-455.
- Dostert C., Jouanguy E., Irving P., Troxler L., Galiana-Arnoux D., Hetru C., Hoffmann J.A. & Imler J.L., The Jak-STAT signaling pathway is required but not sufficient for the antiviral response of drosophila. *Nat Immunol*, 2005, 6, 946-53.
- Ferrandon D., Imler J.L. & Hoffmann J.A., Sensing infection in *Drosophila* : Toll and beyond. *Semin Immunol*, 2004, 16, 43-53.
- Galiana-Arnoux D., Dostert C., Schneemann A., Hoffmann J.A. & Imler J.L., Essential function in vivo for Dicer-2 in host defense against RNA viruses in drosophila. *Nat Immunol*, 2006, 7, 590-597
- Georgel P., Naitza S., Kappler C., Ferrandon D., Zachary D., Swimmer C., Kopczynski C., Duyk G., Reichhart J.M. & Hoffmann J.A., *Drosophila* immune deficiency (IMD) is a death domain protein that activates the antibacterial response and can promote apoptosis. *Development Cell*, 2001, 1, 503-514.
- Hedengren M., Asling B., Dushay M., Ando I., Ekengren S., Wihlborg M. & Hultmark D., Relish, a Central Factor in the Control of Humoral but Not Cellular Immunity in *Drosophila*. *Molecular Cell*, 1999, 4, 1-20.
- Hoffmann J., The immune response of *Drosophila*. *Nature*, 2003, 426, 33-38.
- Imler J.L. & Bulet P., Antimicrobial peptides in *Drosophila* : structures, activities and gene regulation. *Chem Immunol Allergy*, 2005, 86, 1-21.
- Janeway C., Evolution and revolution in immunology. *Cold Spring Harbor Symposia on Quantitative Biology*, 1989, 54, 1-13.
- Lee J.C., Chen H.H. & Chao Y.C., Persistent baculovirus infection results from deletion of the apoptotic suppressor gene p35. *J Virol*, 1998, 72, 9157-65.
- Li H., Li W.X. & Ding S.W., Induction and suppression of RNA silencing by an animal virus. *Science*, 2002, 296, 1319-21.
- Mackenzie J.S., Gubler D.J. & Petersen L.R., Emerging flaviviruses : the spread and resurgence of Japanese encephalitis, West Nile and dengue viruses. *Nat Med*, 2004, 10, S98-S109.
- Obbard D.J., Jiggins F.M., Halligan D.L. & Little T.J., Natural selection drives extremely rapid evolution in antiviral RNAi genes. *Curr Biol*, 2006, 16, 580-5.
- Royet J., Reichhart J.M. & Hoffmann J.A., Sensing and signaling during infection in *Drosophila*. *Curr Opin Immunol*, 2005, 17, 11-7.
- Sabatier L., Jouanguy E., Dostert C., Zachary D., Dimarcq J.L., Bulet P. & Imler J.L., Pherokine-2 and -3 : Two *Drosophila* molecules related to pheromone/odor-binding proteins induced by viral and bacterial infections. *Eur J Biochem*, 2003, 270, 3398-3407.
- Strauss J.H. & Strauss E.G., The alphaviruses : gene expression, replication, and evolution. *Microbiol Rev*, 1994, 58, 491-562.
- van Rij R.P., Saleh M.C., Berry B., Foo C., Houk A., Antoniewski C. & Andino R., The RNA silencing endonuclease Argonaute 2 mediates specific antiviral immunity in *Drosophila melanogaster*. *Genes Dev*, 2006, 20, 2985-95.
- Venter P.A., Krishna N.K. & Schneemann A., Capsid protein synthesis from replicating RNA directs specific packaging of the genome of a multipartite, positive-strand RNA virus. *J Virol*, 2005, 79, 6239-48.
- Wang X.H., Aliyari R., Li W.X., Li H.W., Kim K., Carthew R., Atkinson P. & Ding S.W., RNA interference directs innate immunity against viruses in adult *Drosophila*. *Science*, 2006, 312, 452-4.
- Weber A.N., Tauszig-Delamasure S., Hoffmann J.A., Lelievre E., Gascan H., Ray K.P., Morse M.A., Imler J.L. & Gay N.J., Binding of the *Drosophila* cytokine Spatzle to Toll is direct and establishes signaling. *Nat Immunol*, 2003, 4, 794-800.