

## Micro ARN et infections virales chez les mammifères

Sébastien Pfeffer

Institut de Biologie Moléculaire des Plantes, laboratoire propre du CNRS (UPR 2357) conventionné avec l'Université Louis Pasteur, 12 rue du Général Zimmer, 67084 Strasbourg cedex, France

Auteur correspondant : Sébastien Pfeffer, [sebastien.pfeffer@ibmp-ulp.u-strasbg.fr](mailto:sebastien.pfeffer@ibmp-ulp.u-strasbg.fr)

Reçu le 16 Novembre 2006

**Résumé** – L’extinction par l’ARN (*RNA silencing*) joue un rôle important au cours du développement par l’action des micro (mi) ARN qui régulent de manière fine l’expression d’une grande portion du génome. Cependant, chez les plantes et les insectes, il est également un acteur très important de la réponse immunitaire innée, en particulier dans la défense antivirale. Alors que l’on commence à identifier les déterminants génétiques de ce mécanisme de défense dans ces organismes, l’implication de l’extinction par l’ARN dans la protection antivirale chez les mammifères est beaucoup moins évidente. Afin d’identifier des siARN d’origine virale dans des cellules humaines infectées, les petits ARN ont été clonés et séquencés à partir de cellules infectées par des virus à ARN comme le virus de l’hépatite C, le virus de la fièvre jaune, ou le virus du SIDA, mais sans succès. Au contraire, des petits ARN viraux ont été trouvés dans des cellules infectées par le virus d’Epstein-Barr, un virus à ADN. L’étude de ces petits ARN a montré qu’il s’agissait de miARN et non pas de siARN. Cette découverte indique que les virus humains à ADN ne sont pas ciblés par la machinerie du RNA silencing, mais au contraire semblent avoir développé leurs propres miARN pour moduler l’expression des gènes de l’hôte. Des miARN ont maintenant été découverts chez d’autres herpesvirus, ainsi que chez le polyomavirus SV40. Ces miARN viraux peuvent agir à la fois sur le génome viral et pour réguler l’expression de gènes cellulaires, même si ce dernier point est encore relativement peu étudié.

**Mots clés** : micro ARN / extinction / RNA silencing / virus / régulation de gènes

**Abstract** – Micro RNA and viral infections in mammals.

RNA silencing plays an important role in development through the action of micro (mi) RNAs that fine tune the expression of a large portion of the genome. But, in plants and insects, it is also a very important player in innate immune responses, especially in antiviral defense. It is now well established that the RNA silencing machinery targets plant as well as insect viruses. While the genetic basis underlying this defense mechanism in these organisms starts being elucidated, much less is known about the possible antiviral role of RNA silencing in mammals. In order to identify siRNAs coming from viruses in infected human cells, small RNAs from cells infected with RNA viruses, such as hepatitis C virus, yellow fever virus or HIV-1, were cloned and sequenced, but no virus-specific siRNAs could be detected. On the contrary, viral small RNAs were found in cells infected by the DNA virus Epstein-Barr. A closer look at these revealed that they were not siRNAs, but rather resembled miRNAs. This finding indicated that, rather than being targeted by RNA silencing, human DNA viruses seem to have evolved their own miRNAs to modulate the expression of host genes. This primary observation has been extended to other members of the herpesvirus family as well as other DNA viruses such as the polyomavirus SV40. Viral miRNAs have the potential to act both in *cis* to regulate expression of viral genes, or in *trans* on host genes. There are good indications for the *cis* mode of action, but the identification of cellular targets of these small viral regulators is only in its infancy.

## Introduction

Les miARN sont de petits ARN d'environ 22 nucléotides, régulateurs de l'expression génique, que l'on retrouve chez de nombreux eucaryotes (Bartel, 2004). Le nombre total de miRNA humains est actuellement estimé à plusieurs milliers (Berezikov *et al.*, 2005; Miranda *et al.*, 2006), ce qui laisse supposer qu'une part importante du génome (si ce n'est la totalité du génome) est potentiellement régulée par eux. La biogenèse des miRNA a été étudiée de manière extensive et les grandes étapes sont conservées des plantes aux animaux. Un long transcrite primaire est tout d'abord synthétisé par l'ARN polymérase II (Cai *et al.*, 2004; Lee *et al.*, 2004) puis est reconnu et clivé dans le noyau par la ribonucléase de type III Drosha, en association avec le co-facteur Pasha (DGCR8) (Gregory *et al.*, 2004; Landthaler *et al.*, 2004; Lee *et al.*, 2003; Zeng *et al.*, 2004), pour libérer un précurseur de miARN d'une taille d'environ 70 nucléotides structurés en tige-boucle. Ce pré-miARN est ensuite exporté dans le cytoplasme par le biais du facteur d'export Exportin 5 (Bohnsack *et al.*, 2004; Yi *et al.*, 2003) et une deuxième ribonucléase de type III, Dicer, va cliver le miARN en association avec TRBP (Chendrimada *et al.*, 2005; Forstemann *et al.*, 2005; Gregory *et al.*, 2005; Haase *et al.*, 2005; Hutvagner *et al.*, 2001), pour donner naissance à un duplex de type siARN. L'étape finale est l'assemblage asymétrique du miARN mature dans un complexe de type RISC (*RNA Induced Silencing Complex*) comprenant un membre de la famille Argonaute. Le mode d'action de ce complexe ribonucléoprotéique est dépendant du degré de complémentarité du miARN avec le transcrite cible. S'il y a appariement parfait, la cible est coupée dans la région correspondant au milieu du miARN; cette coupure est effectuée par la protéine Argonaute 2 chez les mammifères (voir Meister & Tuschl, 2004 pour revue). L'ARN ainsi clivé est ensuite dégradé par des exonucléases (Orban & Izaurralde, 2005). Ce mode d'action est le plus commun pour les miARN de plantes, alors que les miARN animaux agissent plutôt par inhibition de traduction par suite d'un appariement imparfait avec leur cible. Plusieurs hypothèses ont récemment émergé pour expliquer ce blocage traductionnel. Certains ont proposé que la stabilité du transcrite pourrait être affectée par suite d'une déadénylation (Giraldez *et al.*, 2006), d'autres ont montré que le messenger ciblé pouvait être séquestré dans des corps cytoplasmiques où il n'est plus accessible à la machinerie traductionnelle (Pillai, 2005). Par ces divers moyens, les miARN régulent une grande variété de procédés physiologiques et de développement tels que, entre autres, la prolifération cellulaire, l'apoptose, la morphogenèse, la sécrétion

d'hormones ou la plasticité neuronale (Plasterk, 2006).

## Extinction par l'ARN et infections virales : un lien étroit

Les miARN représentent l'une des multiples sous-familles de petits ARN retrouvés dans les différentes voies de l'extinction par l'ARN. Leur identification fût précédée par la découverte des siARN chez des plantes transgéniques ou infectées par un virus (Hamilton & Baulcombe, 1999), découverte qui valida la notion couramment admise à présent que le *RNA silencing* joue un rôle antiviral chez les plantes. Cette notion fut par la suite étendue aux insectes (Li *et al.*, 2002). Les pré-requis génétiques de ce mécanisme antiviral commencent à être connus chez la plante modèle *Arabidopsis thaliana*, de même que chez la Drosophile. On sait ainsi que deux des quatre protéines *Dicer-like* chez Arabidopsis, DCL2 et DCL4, agissent de manière redondante pour permettre la défense antivirale en dégradant les virus en siARN qui sont ensuite utilisés par un complexe RISC pour dégrader les transcrits viraux (Deleris *et al.*, 2006). Chez la Drosophile, Dicer 2 et Ago2 sont les déterminants essentiels de la réponse immunitaire innée dirigée contre les virus (Galiana-Arnoux *et al.*, 2006; van Rij *et al.*, 2006; Wang *et al.*, 2006). En réponse à ces mécanismes, les virus de plantes et d'insectes ont développé des stratégies leur permettant de supprimer le *RNA silencing* par le biais de suppresseurs viraux de *RNA silencing* (SVR) (Voinnet, 2005).

A l'heure actuelle, il n'existe pas de données expérimentales solides qui appuieraient l'idée d'un rôle antiviral pour l'extinction par l'ARN chez les mammifères. Ainsi, le clonage et le séquençage de manière extensive de petits ARN isolés de cellules infectées par les virus à ARN de l'hépatite C (HCV), de la fièvre jaune (YFV) ou du VIH n'ont pas permis d'identifier des siARN d'origine virale dans ces cellules (Pfeffer *et al.*, 2005), alors que ceux-ci sont présents en grande quantité dans les tissus infectés chez les plantes et les insectes. Il est possible que l'émergence de réponses immunitaires spécialisées qui ne sont pas séquence-spécifiques (telles que la réponse interféron) ait remplacé ou rendu indétectable le rôle de l'extinction par l'ARN dans la défense antivirale chez les mammifères. Par ailleurs, il est intéressant de noter que plusieurs protéines pouvant jouer un rôle de suppresseur de l'extinction par l'ARN ont été identifiées chez des virus de mammifères, en particulier le virus de la vaccine ou de la grippe (Li *et al.*, 2004). Cependant, ces résultats sont à interpréter prudemment, les expériences ayant jusqu'à présent été faites uniquement dans des systèmes hétérologues. De plus, ces

**Tableau 1.** Liste des miARN viraux connus.

Virus	Nbre de miARN	Noms des miARN	Référence
EBV	23	miR-BHRF1-1 à BHRF1-3 miR-BART1 à BART20	(Cai <i>et al.</i> , 2006; Grundhoff <i>et al.</i> , 2006; Pfeffer <i>et al.</i> , 2004)
RLCV	15	miR-rL1-1 à rL1-16	(Cai <i>et al.</i> , 2006)
KSHV	12	miR-K12-1 à K12-12	(Cai <i>et al.</i> , 2005; Grundhoff <i>et al.</i> , 2006; Pfeffer <i>et al.</i> , 2005; Samols <i>et al.</i> , 2005)
MHV68	9	miR-M1-1 à M1-9	(Pfeffer <i>et al.</i> , 2005)
HCMV	11	miR-UL22-1, miR-UL36-1, miR-UL70-1, miR-UL112-1, miR-UL148D-1, miR-US4-1, miR-US5-1, miR-US5-2, miR-US25-1, miR-US25-2, miR-US33-1	(Dunn <i>et al.</i> , 2005; Grey <i>et al.</i> , 2005; Pfeffer <i>et al.</i> , 2005)
MDV	8	miR-M1 à miR-M8	(Burnside <i>et al.</i> , 2006)
HSV1	2	miR-LAT, miR-H1	(Cui <i>et al.</i> , 2006; Gupta <i>et al.</i> , 2006)
SV40	1	miR-S1	(Sullivan <i>et al.</i> , 2005)
Adenovirus	1 ?	Non nommé	(Aparicio <i>et al.</i> , 2006; Sano <i>et al.</i> , 2006)

Abréviations : EBV, *Epstein-Barr Virus*; rLCV, *rhesus lymphocryptovirus*; KSHV, *Kaposi's Sarcoma associated Herpesvirus*; MHV68, *Murine Herpesvirus 68*; HCMV, *Human Cytomegalovirus*; MDV, *Marek's disease virus*; HSV1, *Herpes Simplex Virus 1*; SV40, *Simian virus 40*.

protéines SVR possèdent des propriétés de fixation de l'ARN double brin (db) pour contrecarrer l'activation de la protéine kinase induite par l'ARNdb (PKR), ce qui pourrait expliquer les effets observés.

Alors que l'on peut raisonnablement admettre que les virus de mammifères ne donnent pas naissance à des siARN, le clonage et séquençage de petits ARN a conduit à l'identification de miARN chez virus de mammifères à génome à ADN. Les miARN viraux ont été identifiés pour la première fois dans le génome du virus d'Epstein-Barr (EBV) (Pfeffer *et al.*, 2004), avant que cette découverte ne soit étendue à d'autres virus tels que le virus associé au sarcome de Kaposi (KSHV), le cytomegalovirus humain (HCMV), l'herpèsvirus murin MHV68, le virus herpes simplex 1 (HSV1) et le virus simien SV40 (Cai *et al.*, 2005; Gupta *et al.*, 2006; Pfeffer *et al.*, 2005; Samols *et al.*, 2005; Sullivan *et al.*, 2005). La découverte des miARN viraux, bien que surprenante, n'était pas complètement inattendue, étant donné la formidable capacité d'adaptation et d'imitation des virus.

## Origine des miARN viraux

A l'heure actuelle, tous les miARN identifiés dans des virus (recensés dans le Tableau 1) l'ont été chez des virus à génome à ADN appartenant à la famille des *Herpesviridae*, à l'exception du polyomavirus SV40. Les

outils informatiques développés pour prédire l'existence de miARN dans divers génomes viraux n'ont pas identifié de candidats potentiels dans les virus à ARN (Pfeffer *et al.*, 2005), prédictions confirmées par les résultats de clonage obtenus avec HCV et YFV. En outre, il est difficilement concevable qu'un virus restreint au cytoplasme, le cas de la plupart des virus à ARN, ait accès à la partie nucléaire de la machinerie de maturation des miARN.

Cette partie détaillera les origines génomiques de quelques miARN, et les fonctions potentielles de certains miARN viraux seront abordées par la suite. Le virus EBV infecte principalement les lymphocytes B, ainsi que les lymphocytes T et les cellules épithéliales de manière marginale. Comme pour tous les herpesvirus, l'ADN viral devient latent après infection et est maintenu sous forme d'épisome nucléaire qui peut épisodiquement réinitier de nouveaux cycles lytiques. L'infection par EBV est bénigne la plupart du temps, mais dans certains cas le virus est responsable du développement de lymphomes et autres tumeurs tels que des carcinomes nasopharyngés ou gastriques (Kieff & Rickinson, 2001). Il a été initialement montré qu'EBV contenait 5 miARN répartis sur deux régions génomiques : un groupe de 3 miARN proches de la phase ouverte de lecture BHRF1 et un groupe de 2 miARN présents dans un intron du transcrit BART (Pfeffer *et al.*, 2004). Deux publications récentes ont identifié un groupe supplémentaire de 18 miARN, dont

12 sont exprimés à partir d'une région d'environ 12 kb du transcrit BART et qui se trouve être déletée dans la souche B95-8 utilisée dans la première publication (Cai *et al.*, 2006; Grundhoff *et al.*, 2006).

Également membre de la sous-famille des *gammaherpesvirinae*, le virus KSHV, le 8ème herpesvirus découvert chez l'homme, est l'agent étiologique responsable du sarcome de Kaposi, une tumeur endothéliale se développant chez les personnes immunodéprimées. Il est également à l'origine d'autres lymphomes particulièrement agressifs tels que le lymphome des cavités ou la maladie de Castleman multicentrique (Moore & Chang, 2001). Au total, 12 miARN codés par KSHV ont été identifiés dans des lignées cellulaires de lymphome B (Cai *et al.*, 2005; Pfeffer *et al.*, 2005; Samols *et al.*, 2005).

Une particularité de ces miARN est qu'ils sont tous regroupés au niveau du même locus génomique de 5 kilobases (kb), qui contient également le gène codant pour les différentes isoformes de la protéine Kaposin qui possède des propriétés transformantes (Kliche *et al.*, 2001). Un des miARN de KSHV, miR-K12-10, est chevauchant avec la phase codante de Kaposin A, et un autre se trouve dans la partie 3' non traduite du même messager. Les autres 10 miARN sont tous dans l'intron d'un long transcrit primaire alternatif. Un promoteur permettant l'expression des 12 miARN a été cartographié en amont du gène codant pour l'antigène nucléaire associé à la latence (LANA) (Pearce *et al.*, 2005). Toutefois, un promoteur alternatif pourrait également permettre l'expression des deux miRNA miR-K12-10 et K12-12, car l'induction du stade lytique n'augmente l'expression que de ces deux miARN (Pfeffer *et al.*, 2005).

Le cytomegalovirus humain possède le plus grand génome de tous les herpes (230 kb), et code potentiellement pour plus de 250 protéines. HCMV est associé à de nombreux problèmes congénitaux ou des complications post-greffe (Mocarski & Courcelle, 2001). 9 miARN furent initialement découverts dans des fibroblastes infectés de manière lytique (Pfeffer *et al.*, 2005), et deux miARN additionnels furent ensuite identifiés (Grey *et al.*, 2005). À l'opposé des miARN de KSHV, les miARN de HCMV sont présents tout au long du génome; quatre sont transcrits sur le brin opposé à des ORF (*Open Reading Frames*) précédemment décrites, six sont dans des régions intergéniques et un est dans l'intron du gène antiapoptotique UL36.

Récemment, un miARN a été identifié dans le génome de l'alphaherpesvirus HSV1. Baptisé miR-LAT, ce miARN est localisé au sein du transcrit associé à la latence, LAT (*Latency Associated Transcript*), le seul gène exprimé au cours de l'infection latente (Gupta *et al.*, 2006). Actuellement, miR-LAT est le seul miARN viral pour lequel des

cibles cellulaires ont été identifiées (voir plus loin). 13 autres miARN ont été prédits pour HSV1, dont un, localisé 450 pb en amont du transcrit LAT, a été validé (Cui *et al.*, 2006). 8 miARN ont également été identifié dans un alphaherpesvirus aviaire, le virus de Marek (MDV); de manière intéressante, 5 de ces miARN sont également localisés dans la région LAT de ce virus (Burnside *et al.*, 2006).

À l'inverse des virus décrits plus haut, le virus SV40 est membre de la famille des *Polyomaviridae*, une famille de virus à génome ADN db circulaire, d'une taille d'environ 5 kb. Un seul miARN, miR-S1, a été identifié dans le génome de SV40. Il est localisé immédiatement en 3' du site de polyadénylation des transcrits tardifs (Sullivan *et al.*, 2005).

Pour conclure cet inventaire, l'adénovirus, un autre virus à ADN, ne contient pas de miARN au sens classique du terme, mais exprime un ARN non codant d'environ 160 nt appelé VA1, retrouvé à des niveaux très élevés dans les cellules infectées. Malgré des similitudes structurales avec un pré-miARN et l'utilisation de l'Exportin 5 pour son transport vers le cytoplasme, VA1 est un très mauvais substrat pour Dicer et seul 1 % des molécules sont clivées en ARN de 22 nt (Aparicio *et al.*, 2006; Sano *et al.*, 2006).

## Fonction des miARN viraux

La figure 1 résume les différentes possibilités d'action des miARN viraux, ceux-ci peuvent en théorie agir à la fois sur le génome viral et sur l'expression de gènes cellulaires. Le miARN miR-S1 du virus SV40 est le premier miARN viral pour lequel une fonction *cis* fut attribuée. Par sa localisation génomique sur le brin complémentaire au transcrit de l'antigène T, il est parfaitement complémentaire à ce dernier. Sullivan *et al.* (2005) ont confirmé que miR-S1 induisait le clivage de l'antigène T dans les stades latents de l'infection (Figure 1, partie 1). Toutefois cette activité n'est pas essentielle à la réplication virale, car un mutant n'exprimant plus miR-S1 se comporte comme le virus sauvage. La dérégulation de l'antigène T semble en fait requise pour diminuer la reconnaissance et l'élimination des cellules infectées par les lymphocytes T cytotoxiques. Le clivage de transcrits viraux est également utilisé par le virus EBV : le miARN miR-BART2 de celui-ci est en effet exprimé à partir du brin complémentaire au transcrit BALF5 et guide le clivage de ce dernier (Pfeffer *et al.*, 2004), et par le virus HCMV pour lequel plusieurs miARN sont également complémentaires à des transcrits viraux (Pfeffer *et al.*, 2005). Les miARN viraux peuvent aussi potentiellement réguler l'expression de cibles virales par blocage de la traduction, mais cela n'a pas encore été décrit. Dans le cas des herpesvirus, la régulation

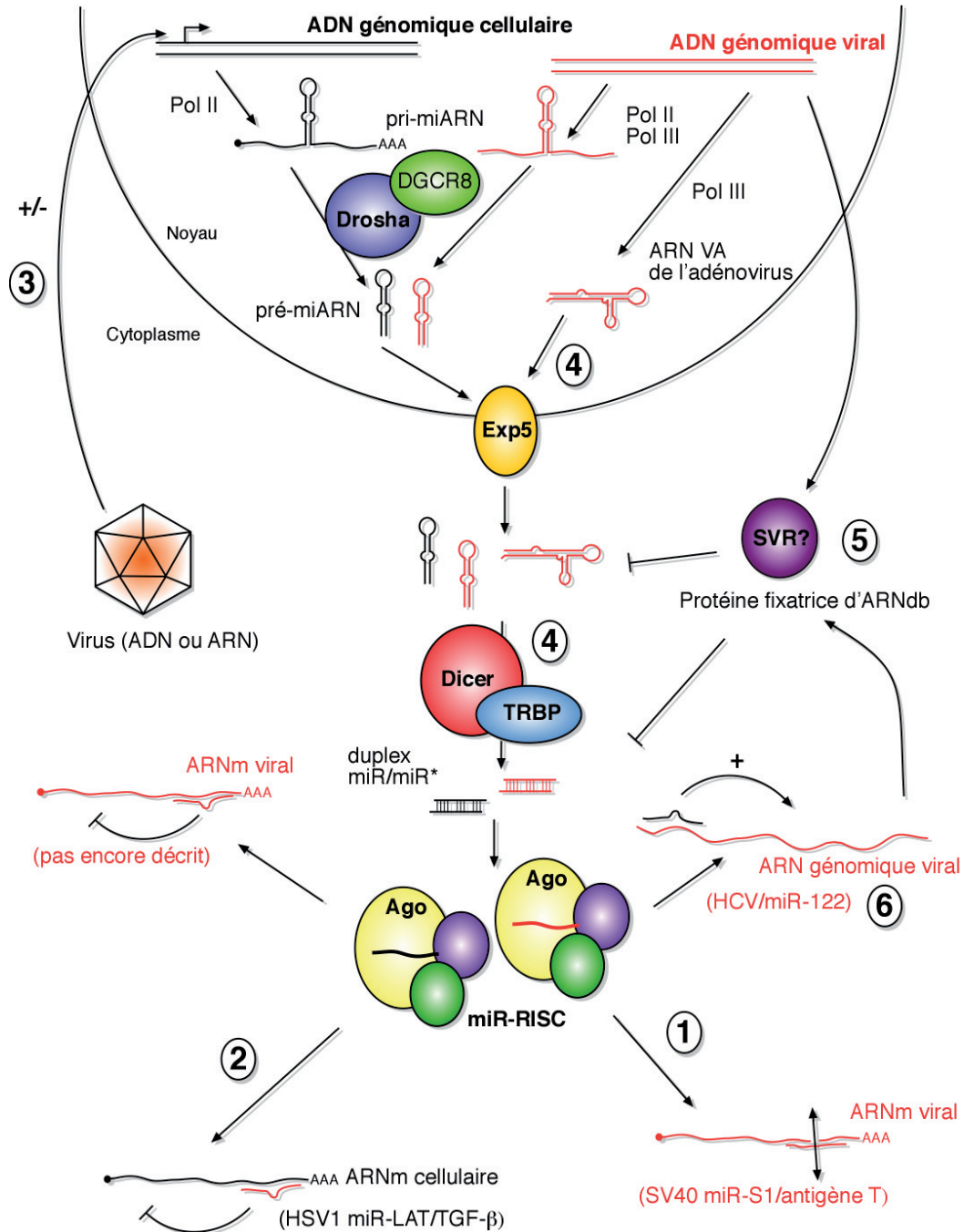


Fig. 1. Interactions entre virus et machinerie des miARN (voir texte pour détails). Adapté de Pfeffer & Voinnet, 2006.

de gènes viraux par les miARN pourrait être critique pour établir le passage de l'état lytique à l'état latent.

La prédiction de cibles cellulaires pour les miARN viraux est limitée par le fait que leur conservation est très limitée. Cependant, deux cibles cellulaires du miARN miR-LAT de HSV1 ont pu être identifiées par prédiction bioinformatique. Gupta et coll. (2006) ont ainsi pu montrer que l'expression de ce miARN seul

permet de récapituler l'activité anti-apoptotique du transcrite LAT. Cette activité semble être due à la régulation des gènes TGF- $\beta$  et SMAD-3 (Figure 1, partie 2), qui sont impliqués dans la régulation de la prolifération cellulaire et l'induction de l'apoptose (Gupta *et al.*, 2006). Ces résultats établissent un rôle clé pour miR-LAT au cours de l'infection latente par HSV1, et on peut émettre l'hypothèse que beau-

coup d'autres cibles cellulaires impliquées dans la prolifération cellulaire, mais aussi la transduction de signal ou la réponse immunitaire vont être identifiées dans les prochains temps pour les miARN viraux.

## Interactions entre la machinerie cellulaire des miARN et virus

L'expression de miARN n'est pas le seul moyen par lequel les virus peuvent interagir avec la machinerie du RNA silencing. Dans cette partie, nous allons entrevoir les autres possibilités. En premier lieu, il est envisageable que l'infection par un virus puisse perturber le profil d'expression des miARN cellulaires. Ainsi, une étude récente de cellules infectées par le VIH a révélé une diminution globale d'au moins un facteur 2 pour environ 40 % d'un set de 312 miARN cellulaires (Yeung *et al.*, 2005). Certains virus pourraient donc déclencher des changements dans la transcription ou la stabilité de miARN (Figure 1, partie 3). Une autre possibilité est la saturation de la machinerie des miARN par des petits ARN viraux qui pourraient entrer en compétition pour la maturation, l'export ou l'assemblage des miARN cellulaires (Figure 1, partie 4). Par exemple, l'ARN non-codant VA1 de l'adénovirus est exprimé très fortement (jusqu'à  $10^8$  copies par cellule) et peut inhiber l'export de miARN cellulaires (Lu & Cullen, 2004). De plus, même si le clivage de VA1 par Dicer est très inefficace (1 %), le nombre obtenu de  $10^6$  petits ARN est probablement plus important que la somme de tous les miARN cellulaires (Andersson *et al.*, 2005; Aparicio *et al.*, 2006; Sano *et al.*, 2006). A moins grande échelle, les miARN de KSHV peuvent représenter jusqu'à 25 % de tous les miARN présents dans la lignée cellulaire BCBL1 (Pfeffer *et al.*, 2005).

La plupart des virus infectant les mammifères codent pour des protéines pouvant fixer l'ARN db afin de contrecarrer la réponse immunitaire innée, principalement la réponse interféron. Ces protéines peuvent aussi théoriquement interférer avec la maturation de miARN cellulaires (Figure 1, partie 5). Par exemple, la protéine NS1 du virus de la grippe fixe les siARN (Bucher *et al.*, 2004) et peut-être également les duplex miR/miR\*. De manière plus générale, les infections virales pourraient altérer le niveau d'expression de facteurs cellulaires impliqués dans la biogenèse des miARN, un scénario qui n'a pas encore été étudié.

Finalement, le dernier exemple d'interaction entre miARN et virus implique la régulation de génomes viraux par des miARN cellulaires. A l'heure actuelle, il existe deux exemples d'une telle régulation, pour laquelle un miARN cellulaire individuel engage des interactions séquence-spécifiques avec un virus (Jopling *et al.*, 2005; Lecellier *et al.*, 2005). Ainsi, Sarnow et

coll. ont pu mettre en évidence un rôle prépondérant pour le miARN spécifique du foie, miR-122, dans le contrôle positif de la régulation du virus de l'hépatite C (Jopling *et al.*, 2005), ce qui explique en partie le tropisme tissulaire très restreint de ce virus (Figure 1, partie 6).

## Conclusion

Nous commençons tout juste à évaluer l'importance des interactions entre virus et voies de *RNA silencing* chez les vertébrés, plus encore chez les mammifères. Cependant, la découverte de miARN d'origine virale va très probablement changer notre vision des relations hôte/virus en lui ajoutant une nouvelle dimension. De nombreux miARN restent encore à découvrir chez les virus de la famille des herpès, ainsi que chez les autres, mais le défi le plus important sera d'identifier les cibles cellulaires pour tous ces miARN. De même, l'étude de mutants dans les gènes de miARN apportera des réponses quant au rôle joué par les miARN au cours de l'infection. En dehors des miARN viraux, la question de savoir si le RNA silencing peut jouer un rôle de défense antivirale reste entière. Jusqu'à présent les recherches ont été uniquement effectuées dans des cellules somatiques, il sera intéressant de voir si ce rôle antiviral peut être mis en évidence dans des types cellulaires très spécialisés ou dans des lignées germinales. La découverte récente d'une nouvelle classe de petits ARN, spécifiquement exprimés dans les testicules, nous montre que nous sommes loin de tout connaître du monde des petits ARN.

## Références

- Andersson, M. G., Haasnoot, P. C., Xu, N., Berenjian, S., Berkhout, B. & Akusjarvi, G. Suppression of RNA interference by adenovirus virus-associated RNA. *J. Virol.*, 2005, 79, 9556-9565.
- Aparicio, O., Razquin, N., Zaratiegui, M., Narvaiza, I. & Fortes, P. Adenovirus virus-associated RNA is processed to functional interfering RNAs involved in virus production. *J. Virol.*, 2006, 80, 1376-1384.
- Bartel, D. P. MicroRNAs : genomics, biogenesis, mechanism, and function. *Cell*, 2004, 116, 281-297.
- Berezikov, E., Guryev, V., van de Belt, J., Wienholds, E., Plasterk, R. H. & Cuppen, E. Phylogenetic Shadowing and Computational Identification of Human microRNA Genes. *Cell*, 2005, 120, 21-24.
- Bohnsack, M. T., Czaplinski, K. & Gorlich, D. Exportin 5 is a RanGTP-dependent dsRNA-binding protein that mediates nuclear export of pre-miRNAs. *RNA*, 2004, 10, 185-191.
- Bucher, E., Hemmes, H., de Haan, P., Goldbach, R. & Prins, M. The influenza A virus NS1 protein binds

- small interfering RNAs and suppresses RNA silencing in plants. *J. Gen. Virol.*, 2004, 85, 983-991.
- Burnside, J., Bernberg, E., Anderson, A., Lu, C., Meyers, B. C., Green, P. J., Jain, N., Isaacs, G. & Morgan, R. W. Marek's disease virus encodes MicroRNAs that map to meq and the latency-associated transcript. *J. Virol.*, 2006, 80, 8778-8786.
- Cai, X., Hagedorn, C. H. & Cullen, B. R. Human microRNAs are processed from capped, polyadenylated transcripts that can also function as mRNAs. *RNA*, 2004, 10, 1957-1966.
- Cai, X., Lu, S., Zhang, Z., Gonzalez, C. M., Damania, B. & Cullen, B. R. Kaposi's sarcoma-associated herpesvirus expresses an array of viral microRNAs in latently infected cells. *Proc. Natl Acad. Sci. U S A*, 2005, 102, 5570-5575.
- Cai, X., Schafer, A., Lu, S., Bilello, J. P., Desrosiers, R. C., Edwards, R., Raab-Traub, N. & Cullen, B. R. Epstein-Barr Virus MicroRNAs Are Evolutionarily Conserved and Differentially Expressed. *PLoS Pathog*, 2006, 2, e23.
- Chendrimada, T. P., Gregory, R. I., Kumaraswamy, E., Norman, J., Cooch, N., Nishikura, K. & Shiekhattar, R. TRBP recruits the Dicer complex to Ago2 for microRNA processing and gene silencing. *Nature*, 2005, 436, 740-744.
- Cui, C., Griffiths, A., Li, G., Silva, L. M., Kramer, M. F., Gaasterland, T., Wang, X. J. & Coen, D. M. Prediction and identification of herpes simplex virus 1-encoded microRNAs. *J. Virol.*, 2006, 80, 5499-5508.
- Deleris, A., Gallego-Bartolome, J., Bao, J., Kasschau, K. D., Carrington, J. C. & Voinnet, O. Hierarchical action and inhibition of plant Dicer-like proteins in antiviral defense. *Science*, 2006, 313, 68-71.
- Dunn, W., Trang, P., Zhong, Q., Yang, E., van Belle, C. & Liu, F. Human cytomegalovirus expresses novel microRNAs during productive viral infection. *Cell Microbiol.*, 2005, 7, 1684-1695.
- Forstemann, K., Tomari, Y., Du, T., Vagin, V. V., Denli, A. M., Bratu, D. P., Klattenhoff, C., Theurkauf, W. E. & Zamore, P. D. Normal microRNA maturation and germ-line stem cell maintenance requires Loquacious, a double-stranded RNA-binding domain protein. *PLoS Biol.*, 2005, 3, e236.
- 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.
- Giraldez, A. J., Mishima, Y., Rihel, J., Grocock, R. J., Van Dongen, S., Inoue, K., Enright, A. J. & Schier, A. F. Zebrafish MiR-430 promotes deadenylation and clearance of maternal mRNAs. *Science*, 2006, 312, 75-79.
- Gregory, R. I., Chendrimada, T. P., Cooch, N. & Shiekhattar, R. Human RISC couples microRNA biogenesis and posttranscriptional gene silencing. *Cell*, 2005, 123, 631-640.
- Gregory, R. I., Yan, K. P., Amuthan, G., Chendrimada, T., Doratotaj, B., Cooch, N. & Shiekhattar, R. The Microprocessor complex mediates the genesis of microRNAs. *Nature*, 2004, 432, 235-240.
- Grey, F., Antoniewicz, A., Allen, E., Saugstad, J., McShea, A., Carrington, J. C. & Nelson, J. Identification and characterization of human cytomegalovirus-encoded microRNAs. *J. Virol.*, 2005, 79, 12095-12099.
- Grundhoff, A., Sullivan, C. S. & Ganem, D. A combined computational and microarray-based approach identifies novel microRNAs encoded by human gamma-herpesviruses. *RNA*, 2006, 12, 733-750.
- Gupta, A., Gartner, J. J., Sethupathy, P., Hatzigeorgiou, A. G. & Fraser, N. W. Anti-apoptotic function of a microRNA encoded by the HSV-1 latency-associated transcript. *Nature*, 2006, 442, 82-85.
- Haase, A. D., Jaskiewicz, L., Zhang, H., Laine, S., Sack, R., Gatignol, A. & Filipowicz, W. TRBP, a regulator of cellular PKR and HIV-1 virus expression, interacts with Dicer and functions in RNA silencing. *EMBO Rep.*, 2005, 6, 961-967.
- Hamilton, A. J. & Baulcombe, D. C. A species of small antisense RNA in posttranscriptional gene silencing in plants. *Science*, 1999, 286, 950-952.
- Hutvagner, G., McLachlan, J., Pasquinelli, A. E., Balint, E., Tuschl, T. & Zamore, P. D. A cellular function for the RNA-interference enzyme Dicer in the maturation of the let-7 small temporal RNA. *Science*, 2001, 293, 834-838.
- Jopling, C. L., Yi, M., Lancaster, A. M., Lemon, S. M. & Sarnow, P. Modulation of hepatitis C virus RNA abundance by a liver-specific MicroRNA. *Science*, 2005, 309, 1577-1781.
- Kieff, E. & Rickinson, A. B. Epstein-Barr Virus and its replication, In B. N. Fields, D. M. Knipe, P. M. Howley, D. E. Griffin, R. A. Lamb, M. A. Martin, B. Roizman, & S. E. Straus (Eds.), *Fields Virology*, 2001, 2511-2551. Philadelphia : Lippincott, Williams & Wilkins.
- Kliche, S., Nagel, W., Kremmer, E., Atzler, C., Ege, A., Knorr, T., Koszinowski, U., Kolanus, W. & Haas, J. Signaling by human herpesvirus 8 kaposin A through direct membrane recruitment of cytohesin-1. *Mol. Cell.*, 2001, 7, 833-843.
- Landthaler, M., Yalcin, A. & Tuschl, T. The human DiGeorge syndrome critical region gene 8 and Its D. melanogaster homolog are required for miRNA biogenesis. *Curr. Biol.*, 2004, 14, 2162-2167.
- Lecellier, C. H., Dunoyer, P., Arar, K., Lehmann-Che, J., Eyquem, S., Himber, C., Saib, A. & Voinnet, O. A cellular microRNA mediates antiviral defense in human cells. *Science*, 2005, 308, 557-560.
- Lee, Y., Ahn, C., Han, J., Choi, H., Kim, J., Yim, J., Lee, J., Provost, P., Radmark, O., Kim, S. & Kim, V. N. The nuclear RNase III Drosha initiates microRNA processing. *Nature*, 2003, 425, 415-419.
- Lee, Y., Kim, M., Han, J., Yeom, K. H., Lee, S., Baek, S. H. & Kim, V. N. MicroRNA genes are transcribed by RNA polymerase II. *Embo J.*, 2004, 23, 4051-4060.
- Li, H., Li, W. X. & Ding, S. W. Induction and suppression of RNA silencing by an animal virus. *Science*, 2002, 296, 1319-1321.

- Li, W. X., Li, H., Lu, R., Li, F., Dus, M., Atkinson, P., Brydon, E. W., Johnson, K. L., Garcia-Sastre, A., Ball, L. A., Palese, P. & Ding, S. W. Interferon antagonist proteins of influenza and vaccinia viruses are suppressors of RNA silencing. *Proc. Natl Acad. Sci. U S A*, 2004, 101, 1350-1355.
- Lu, S. & Cullen, B. R. Adenovirus VA1 noncoding RNA can inhibit small interfering RNA and MicroRNA biogenesis. *J. Virol.*, 2004, 78, 12868-12876.
- Meister, G. & Tuschl, T. Mechanisms of gene silencing by double-stranded RNA. *Nature*, 2004, 431, 343-349.
- Miranda, K. C., Huynh, T., Tay, Y., Ang, Y. S., Tam, W. L., Thomson, A. M., Lim, B. & Rigoutsos, I. A pattern-based method for the identification of MicroRNA binding sites and their corresponding heteroduplexes. *Cell*, 2006, 126, 1203-1217.
- Mocarski, E. S. & Courcelle, C. T. Cytomegaloviruses and their replication, In B. N. Fields, D. M. Knipe, P. M. Howley, D. E. Griffin, R. A. Lamb, M. A. Martin, B. Roizman, & S. E. Straus (Eds.), *Fields Virology*, 2001, 2629-2673. Philadelphia : Lippincott, Williams & Wilkins.
- Moore, P. S. & Chang, Y. Kaposi's sarcoma-associated herpesvirus, In B. N. Fields, D. M. Knipe, P. M. Howley, D. E. Griffin, R. A. Lamb, M. A. Martin, B. Roizman, & S. E. Straus (Eds.), *Fields Virology*, 2001, 2803-2833. Philadelphia : Lippincott, Williams & Wilkins.
- Orban, T. I. & Izaurralde, E. Decay of mRNAs targeted by RISC requires XRN1, the Ski complex, and the exosome. *RNA*, 2005.
- Pearce, M., Matsumura, S. & Wilson, A. C. Transcripts Encoding K12, v-FLIP, v-Cyclin, and the MicroRNA Cluster of Kaposi's Sarcoma-Associated Herpesvirus Originate from a Common Promoter. *J. Virol.*, 2005, 79, 14457-14464.
- Pfeffer, S., Sewer, A., Lagos-Quintana, M., Sheridan, R., Sander, C., Grasser, F. A., van Dyk, L. F., Ho, C. K., Shuman, S., Chien, M., Russo, J. J., Ju, J., Randall, G., Lindenbach, B. D., Rice, C. M., Simon, V., Ho, D. D., Zavolan, M. & Tuschl, T. Identification of microRNAs of the herpesvirus family. *Nat. Methods*, 2005, 2, 269-276.
- Pfeffer, S. & Voinnet, O. Viruses, microRNAs and cancer. *Oncogene*, 2006, 25, 6211-6219.
- Pfeffer, S., Zavolan, M., Grasser, F. A., Chien, M., Russo, J. J., Ju, J., John, B., Enright, A. J., Marks, D., Sander, C. & Tuschl, T. Identification of virus-encoded microRNAs. *Science*, 2004, 304, 734-736.
- Pillai, R. S. MicroRNA function : multiple mechanisms for a tiny RNA? *RNA*, 2005, 11, 1753-1761.
- Plasterk, R. H. Micro RNAs in animal development. *Cell*, 2006, 124, 877-881.
- Samols, M. A., Hu, J., Skalsky, R. L. & Renne, R. Cloning and identification of a microRNA cluster within the latency-associated region of Kaposi's sarcoma-associated herpesvirus. *J. Virol.*, 2005, 79, 9301-9305.
- Sano, M., Kato, Y. & Taira, K. Sequence-specific interference by small RNAs derived from adenovirus VAI RNA. *FEBS Lett.*, 2006, 580, 1553-1564.
- Sullivan, C. S., Grundhoff, A. T., Tevethia, S., Pipas, J. M. & Ganem, D. SV40-encoded microRNAs regulate viral gene expression and reduce susceptibility to cytotoxic T cells. *Nature*, 2005, 435, 682-686.
- 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, 2985-2995.
- Voinnet, O. Induction and suppression of RNA silencing : insights from viral infections. *Nat Rev Genet*, 2005, 6, 206-220.
- 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, 452-454.
- Yeung, M. L., Bennasser, Y., Myers, T., Jiang, G., Benkirane, M. & Jeang, K. T. Changes in microRNA expression profiles in HIV-1-transfected human cells. *Retrovirology*, 2005, 2, 81.
- Yi, R., Qin, Y., Macara, I. G. & Cullen, B. R. Exportin-5 mediates the nuclear export of pre-microRNAs and short hairpin RNAs. *Genes Dev.*, 2003, 17, 3011-3016.
- Zeng, Y., Yi, R. & Cullen, B. R. Recognition and cleavage of primary microRNA precursors by the nuclear processing enzyme Drosha. *Embo J.*, 2005, 24, 128-148.