

Caractérisation des interactions virus-hôte par protéomique comparative : le cas des nidovirus PEDV et PRRSV, d'importants pathogènes pour l'industrie porcine

Mehdi MAURY LAOUEDJ^{1,2}, Camila A VALLE TEJADA^{1,2}, Georgette FERLING ROMERO³,
Laura SANCHEZ MENDOZA^{1,2}, Francis BEAUDRY^{1,2}, Levon ABRAHAMYAN^{1,2}

- ¹ Groupe de recherche sur les maladies infectieuses en production animale (GREMIP),
Faculté de médecine vétérinaire, Université de Montréal, 3200, rue Sicotte, Saint-Hyacinthe (Québec)
- ² Centre de recherche en infectiologie porcine et avicole (CRIPA),
Faculté de médecine vétérinaire, Université de Montréal, 3200, rue Sicotte, Saint-Hyacinthe (Québec)
- ³ Universidad Nacional Autónoma de México (Mexique); Étudiants soutenus par la bourse de stage de recherche Mitacs Globalink

Courriel de correspondance : levon.abrahamyan@umontreal.ca

Mots clés : Virologie, Maladie infectieuse, PEDV, PRRSV, Porc.

Le virus du syndrome respiratoire et reproducteur porcin (PRRSV) et le virus de la diarrhée épidémique porcine (PEDV) sont deux importants virus porcins à ARN monocaténaire positif, enveloppés, de l'ordre des *Nidovirales*. Ils partagent des caractéristiques communes, notamment une organisation génomique conservée, une structure particulière ainsi qu'une stratégie de réplication similaires (Gorbalenya *et al.*, 2006). Les pertes annuelles de l'industrie porcine dues au PRRSV s'élèvent à 600 millions de dollars aux États-Unis et à 130 millions de dollars au Canada (Holtkamp *et al.*, 2013, Mussell *et al.*, 2010). Le PEDV est une maladie à déclaration obligatoire au Canada (Pasick *et al.*, 2014). Au cours des années 2013 et 2014, l'épidémie du PEDV a détruit plus de 10 % de la population porcine aux États-Unis (Jung *et al.*, 2015). Récemment, l'épidémie de SRAS-CoV-2 a relancé l'intérêt pour l'étude des coronavirus animaux. Il est donc essentiel de comprendre la biologie des coronavirus porcins afin d'améliorer notre capacité à prédire et à contrôler les futures pandémies. En outre, il a été démontré que l'introduction d'une mutation ponctuelle créant un site de clivage artificiel de la furine dans la protéine de pointe du PEDV confère un phénotype d'entrée du virus indépendant de la trypsine (Song *et al.*, 2015). Ainsi, la présence et la spécificité des protéases cellulaires, ainsi que les mutations des protéines de l'enveloppe virale, peuvent définir la gamme d'hôtes et le tropisme des nidovirus. D'ailleurs, les protéines de la cellule hôte, les lipides et les glycanes associés à l'enveloppe virale peuvent aider le virus à échapper à la détection par le système immunitaire (Li *et al.*, 2015). On s'attend à ce que la composition des virions dépende de l'origine des cellules hôtes dont ils dérivent. De plus, on prévoit que ces deux virus modulent l'environnement intracellulaire et les mécanismes de défense immunitaire de l'hôte afin de promouvoir les conditions idéales pour leur réplication et leur propagation.

Nous proposons d'étudier la dynamique des interactions moléculaires hôte-PEDV ; -PRRSV. Cela permettra de mieux comprendre les interactions nidovirus-hôte et aidera à développer de nouvelles stratégies antivirales. Les interactions virus-hôtes sont très dynamiques et peuvent impliquer des complexes multiprotéiques. Comme d'autres auparavant, nous avons utilisé des approches biochimiques et protéomiques pour identifier ces complexes multiprotéiques virus-hôte. De plus, nous avons montré que leur composition est contrôlée par le virus, soit par recrutement direct, soit par liaison à des protéines de l'hôte. Notre projet vise à étudier les mécanismes moléculaires

virus-hôte caractérisant l'infection et la pathogenèse ; car nous pensons que notre compréhension insuffisante de ces interactions entrave le développement de nouvelles stratégies antivirale efficace face au PEDV et au PRRSV. Pour découvrir le réseau moléculaire complexe des interactions virus-hôte, nous avons établi les objectifs de recherche suivants :

- ¹ Au niveau viral : il existe une variété d'interactions étroites entre les nidovirus (PRRSV et PEDV) et les protéines cellulaires de l'hôte. Par conséquent, la composition des virions produits par différentes lignées cellulaires peut varier. Cela peut avoir une importance biologique comme affecter l'infectivité, la pathogénicité, etc.;
- ² Au niveau cellulaire : en étudiant les profils protéomiques différentiels des cellules au cours de l'infection virale, nous pourrions identifier les protéines de l'hôte régulées à la hausse ou à la baisse et ainsi, visualiser les détails des réseaux d'interactions au cours de l'invasion virale;
- ³ L'infection par le PRRSV et le PEDV entraîne une modification des profils protéomiques microvésicules extracellulaires (MVE) qui pourrait moduler l'évasion immunitaire, augmenter l'infectivité, etc.

Nous observons que le PRRSV et le PEDV modifient les profils protéomiques des cellules infectées au cours de la période d'infection (0h à 48h de post-infection). Les protéines identifiées ont été classées selon leurs fonctions moléculaires et leurs implications dans les processus biologiques. La majorité des protéines affectées sont soit associées à des activités catalytiques, soit à des fonctions de liaison aux acides nucléiques. Ainsi, notre étude de la dynamique de l'entière du protéome de l'hôte pendant l'infection virale montre des changements distincts dans les profils intracellulaires des protéines de l'hôte, par conséquent, ceci valide notre hypothèse. D'autre part, en fournissant des détails supplémentaires sur la dérégulation de plusieurs voies de l'hôte induite par le virus, nous identifierons les facteurs clés du cycle de vie du PEDV et du PRRSV. De plus en plus de preuves indiquent que les microvésicules extracellulaires jouent un rôle important dans la pathogenèse virale et la modulation des réponses immunitaires de l'hôte lors de l'infection. Dans notre étude, nous avons démontré que les microvésicules/exosomes dérivés de cellules infectées par le PEDV et le PRRSV présentent des profils protéomiques distincts. En outre, les biomarqueurs des exosomes et des microvésicules, tels que CD86 et HSP40, ont été retrouvés dans les préparations virales semi-purifiées et purifiées, mais leur abondance est plus faible dans la préparation virale purifiée. Cela était attendu en raison d'une contamination moindre par les microvésicules/exosomes dans les échantillons purifiés. Il est important de noter que nous avons identifié différentes protéines de l'hôte incorporées ou associées aux virions du PEDV et du PRRSV.

Nous avons constaté que les infections par le PEDV et le PRRSV modulent l'abondance de divers protéines de l'hôte impliquées dans différentes voies biologiques. Par ailleurs, l'infection par le PEDV ou le PRRSV induit des changements dans les profils protéomiques des microvésicules produites par les cellules infectées par le virus. Plus précisément, les protéines impliquées dans la liaison des acides nucléiques, les processus métaboliques et les voies de signalisation étaient parmi les plus affectées par l'infection par le PEDV dans les préparations semi-purifiées, enrichies par des microvésicules extracellulaires.

Il est intéressant de noter que les protéines de l'hôte impliquées dans la régulation du cycle cellulaire et du cytosquelette ont également été affectées en abondance. Cela n'est pas surprenant car de multiples études soulignent que les protéines du cytosquelette participent activement au déplacement des composants viraux vers le site d'assemblage. Nous avons montré que l'infection par le PRRSV et le PEDV provoquait également des modifications temporelles du protéome de l'hôte. L'étude quantitative des profils protéomiques du virus et de l'hôte tout au long de l'infection virale fournit des informations essentielles sur l'interaction virus-hôte. De plus, la présente étude a démontré l'incorporation de nombreuses protéines cellulaires dans les virions du PEDV et du PRRSV. Ces protéines cellulaires, spécifiquement encapsidées dans les virions, pourraient jouer un rôle important dans la pathogénicité virale. A court terme, nous continuerons la comparaison du profil protéomique par l'utilisation d'IPEC-J2, cellules intestinales porcines, cibles du PEDV et de MARC-145, lignée de référence pour le PRRSV, afin de compléter et confirmer nos résultats.

Références

Gorbalenya, A.E. *et al.*, (2006), *Virus Res*, 117(1): p. 17-37.
Holtkamp DJ *et al.*, (2013), *J. Swine Health Prod.*, 21(2): p. 72-84.
Mussell, A., (2010), *Farmscape online*.
Pasick, J. *et al.*, (2014), *Transbound Emerg Dis*, 61(5): p. 397-410.
Jung, K. *et al.*, (2015), *The Vet J*, 204(2): p. 134-143.
Song, D *et al.*, (2015), *Clin Exp Vaccine Res*, 4(2): p. 166-176.
Li *et al.*, (2015), *J Virol*, 89(15): p 8077-81.