Séances plénières et conférences

C1

Persistence virale dans notre microbiote digestif : comment les bactériophages s'en sortent !

Laurent Debarbieux

Biologie moléculaire du gène chez les extrémophiles / Groupe Phages (BMGE), Institut Pasteur, Paris, France
<laurent.debarbieux@pasteur.fr>

Les avancées technologiques en séquençage de l'ADN ont permis de réaliser que les populations microbiennes hébergées dans le tube digestif de l'être humain sont abondantes, diverses. L'analyse de cohortes de patients a révélé que certaines maladies étaient caractérisées par une perturbation de l'équilibre du microbiote digestif. Mais ce n'est que plus récemment que la partie virale du tube digestif a été étudiée et a révélé que, d'une part les virus les plus abondants sont les bactériophages et que d'autre part les équilibres viraux sont eux aussi associés à la santé humaine. Les dynamiques entre proies et prédateurs, bactéries et bactériophages, ont été étudiées de manière extensive au laboratoire permettant de décrire de multiples mécanismes sous-jacents à l'évolution de ces deux populations antagonistes. Par contre, très peu d'études ont été rapportées dans un contexte naturel, notamment au sein du tube digestif. Nous avons élaboré un protocole expérimental pour apprécier l'évolution d'un bactériophage virulent (P10) dans le tube digestif de souris colonisées par 2 souches d'*Escherichia coli* (M1655 et LF82). Initialement le bactériophage P10 n'infecte que la souche LF82, mais après quelques jours au contact de ces deux souches dans le tube digestif des animaux, il acquiert la capacité d'infecter aussi la souche MG1655, alors que des expériences menées *in vitro* ou avec des souris dixéniques ne permettent pas d'obtenir un tel « saut d'hôte ». La caractérisation génétique des mutations dans le génome du bactériophage P10 a permis de démontrer que le changement d'un seul nucléotide, provoquant le changement d'un seul acide aminé dans une protéine de fibre, était suffisant pour que ce bactériophage acquière la capacité à infecter la souche MG1655. Des analyses complémentaires ont montré que dans le tube digestif, une troisième souche bactérienne était nécessaire pour que ce saut d'hôte ait lieu. Ainsi, les bactériophages utilisent la diversité des souches bactériennes présentes dans le tube digestif pour « sauter » d'hôte en hôte afin de persister dans cet environnement. Ces résultats pourraient expliquer comment certaines familles de bactériophages tels que le crAss phage puissent être présents chez 50 % de la population humaine. Ils démontrent aussi que la vitesse d'évolution de ces virus dans l'environnement est difficile à anticiper à partir de données obtenues *in vitro*. De même, ils ouvrent une porte sur la découverte de nouvelles solutions évolutives jamais décrites à partir d'expériences menées au laboratoire dans des conditions optimales.

C2

Archaeal viruses: the dark matter of the virosphere

Mart Krupovic

Institut Pasteur, Paris, France
<krupovic@pasteur.fr>

Viruses of archaea represent one of the most enigmatic parts of the virosphere. Most of the characterized archaeal viruses infect extremophilic hosts and display remarkable diversity of virion morphotypes, many of which have never been observed among viruses of bacteria or eukaryotes. The uniqueness of the virion morphologies is matched by the distinctiveness of the genomes of these viruses, with ~75 % of genes encoding unique proteins, refractory to functional annotation based on sequence analyses. Recent environmental studies have shown that archaeal viruses are not a marginal component of the virosphere, but play prominent roles

in influencing microbial communities, especially in ocean ecosystems, whereas metagenomic studies have uncovered new group so far archaeal viruses that infect extremophiles and mesophiles in diverse habitats. In this talk, I will summarize recent advances in our understanding of the genomic and structural diversity of archaeal viruses and the molecular biology of their life cycles and virus-host interactions. I will also examine the potential origins and evolution of archaeal viruses and discuss their place in the global virosphere.

C3

Étude structurale du mécanisme de l'éjection de l'ADN chez les siphophages

Cécile Breyton, Charles-Adrien Arnaud, Romain Linares, Gregory Effantin, Guy Schoehn

Institut de Biologie structurale (IBS), CNRS : UMR5075, Université Grenoble-Alpes, Commissariat à l'énergie atomique et aux énergies alternatives (CEA), Grenoble, France
<cecile.breyton@ibs.fr>

Les bactériophages sont les organismes les plus abondants de la biosphère. Ils ont été à l'origine de découvertes majeures en génétique et biologie moléculaire dans la 1^{re} partie du xx^e siècle. Leur étude connaît un regain d'intérêt qui touche des domaines aussi divers que l'écologie, la génétique et la phylogénie... Du fait des problèmes de santé publique liés à la résistance aux antibiotiques d'un nombre croissant de souches infectieuses, l'utilisation des phages comme alternative aux antibiotiques (phagothérapie) connaît également un nouvel essor. La majorité des phages identifiés à ce jour sont constitués d'une capsid protéique renfermant un ADN double brin et d'une queue protéique, rigide ou flexible, dont l'extrémité assure la reconnaissance de l'hôte. Cette reconnaissance est suivie de la perforation de la paroi bactérienne et de l'éjection du génome hors de la capsid dans le cytoplasme bactérien. Dans le cas des phages lytiques, la machinerie biosynthétique de la bactérie est alors détournée au profit de l'expression du génome viral et de la production de nouveaux virions. Nous nous intéressons à la structure de la queue du siphophage T5. Ce phage a une longue queue flexible, dont pb5, située à l'extrémité distale de la queue, reconnaît et se lie à FhuA, transporteur de la membrane externe d'*E. coli*. L'interaction entre les deux protéines est nécessaire et suffisante pour déclencher l'infection. Quelle est la composition et la structure de cette queue ? Quelle est la conservation de cette structure parmi les queues de phages ? Quel est le signal de reconnaissance de l'hôte transmis à la capsid permettant son ouverture ? Quels sont les changements de conformation induisant la perforation de la paroi bactérienne ? Voici quelques questions auxquelles nous répondrons plus ou moins en détail.

C4

Mécanismes d'entrée et de réplication des Flavivirus

Laurent Meertens

Pathologie cellulaire : aspects moléculaires et viraux / Pathologie et virologie moléculaire, Université Paris VII-Paris Diderot, Hôpital Saint-Louis, Inserm : U944, CNRS : UMR7212, Institut universitaire d'hématologie (IUH), 75010 Paris, France
<laurent.meertens@inserm.fr>

(Non communiqué.)

C5

Membrane assembly of large DNA viruses; electron microscopy leads the way

Jacomina Krijnse Locker

Unit for service and technology in ultra-structural imaging Center for innovation and technological research (Ultrapol), Institut Pasteur, 28, rue du Dr. Roux 75015 Paris, France
<jacomina.krijnse-locker@pasteur.fr>

For more than 20 years, we have been studying the assembly of the large DNA viruses of the poxvirus family using a variety of imaging techniques. A major controversy in the field is the way these viruses acquire their membrane. Based on classical thin section electron microscopy (EM) carried out in the 1960th it was proposed that the poxvirus vaccinia virus (VACV) acquires a single membrane made *de novo* in the cytoplasm (Dales and Mosbach, 1968). As other enveloped viruses acquire their membrane from the host by budding at cellular membranes this proposal has been highly criticized. In 2009 we applied cryo-EM and 3D-EM methods and proposed another unconventional model; VACV recruits membrane derived from the endoplasmic reticulum (ER) that are ruptured. The open intermediates build an open membrane sphere of roughly 350 nm in diameter, shaped by the viral scaffold protein assembled on the convex side of the sphere. The membrane closes after DNA uptake followed by particle maturation (Chlanda et al, 2009; Krijnse Locker et al, 2013). This unconventional model has been criticized as well; molecular mechanisms in favor of one versus other models are, however, missing. I will show that members of the giant DNA virus-family, to which VACV belongs, use a similar mechanism of assembly building an open membrane sphere from open intermediates, shaped by an external capsid/scaffold (Suarez et al, 2015; Suarez et al, 2013). Preliminary result obtained with VACV show a role for both specific cellular lipids as well as viral proteins, some of these preliminary data will be presented.

Chlanda, P. *et al. Cell Host & Microbe* 2009 ; 6 : 81-90. Dales S and Mosbach EH. *Virology* 1968 ; 35, 564-583. Krijnse Locker J, *et al. Cell Microb* 2013 ; 15 : 190-9. Suarez C, *et al. Cell Microbiol* 2015 ; 17 : 1683-98. Suarez C, *et al. Cellular microbiology* 2013 ; 15.

C6

Comment trouver une aiguille dans une botte de foin ? Sélection et encapsidation de l'ARN génomique du VIH-1

Serena Bernacchi, Valérie Vivet-Boudou, Orian Gilmer, Jean-Christophe Paillart, Roland Marquet

Architecture et réactivité de l'ARN (ARN), CNRS : UPR9002-IBMC, Strasbourg, France

<r.marquet@ibmc-cnrs.unistra.fr>

Comme l'ensemble des rétrovirus, le virus de l'immunodéficience humaine de type 1 (VIH-1) encapside deux copies de son ARN génomique sous forme dimérique. Dimérisation et encapsidation du génome rétroviral sont des phénomènes intimement liés, sans que les mécanismes sous-jacents soient connus. Le précurseur des protéines de structure des rétrovirus, Gag, est nécessaire et suffisant pour produire des pseudo-particules virales et est l'acteur clé de la sélection et de l'encapsidation du génome. Gag comprend les précurseurs des protéines de la matrice (MA), de la capsid (CA) et de la nucléocapsid virale (NC) et suivant les rétrovirus, il peut contenir un ou plusieurs domaines additionnels. Chez le VIH-1, les domaines MA, CA et NC sont respectivement responsables de l'ancrage dans la membrane plasmique, de l'oligomérisation du précurseur et de la fixation des acides nucléiques et Pr55Gag contient à son extrémité N-terminale un domaine, p6, impliqué dans les étapes tardives du bourgeonnement. Le VIH-1 est un rétrovirus complexe qui en plus de l'ARN pleine longueur, qui joue le rôle de génome et d'ARNm pour la synthèse des précurseurs Pr55Gag et Pr160Gag-Pol, génère plus de 100 espèces d'ARNm épissés. Tous les ARN viraux ont en commun le premier exon, ce qui complique la reconnaissance spécifique de l'ARN génomique. L'étude mécanistique de ce processus est en plus compliquée par la difficulté à produire et purifier la protéine Pr55Gag entière et la plupart des études *in vitro* menées par d'autres groupes l'ont été avec une protéine dépourvue du domaine p6 (Gagp6). Dans une série d'études récentes, nous avons identifié le site primaire de fixation de Pr55Gag sur l'ARN génomique du VIH-1 : il se situe sur la tige-boucle SL1 qui gouverne aussi la dimérisation de l'ARN, et non sur SL3 comme préalablement proposé, bien que ce motif en tige-boucle joue aussi un rôle dans la fixation du précurseur [Abd El-Wahab, *et al. Nat Comm* 2014 ; Smyth, *et al. Nat Methods* 2015 ; Bernacchi *et al. RNA Biol* 2017]. Au total, ce sont

~110 nucléotides qui participent à la fixation de Pr55Gag [Smyth *et al. Nat Methods* 2015]. SL1 est présente sur l'ensemble des ARN viraux, et la discrimination entre ARN génomique et ARN viraux est possible grâce à une double régulation : négative par la région commune à tous les ARN viraux et positive par une région présente uniquement sur l'ARN génomique [Abd El-Wahab, *et al. Nat Comm* 2014]. Cette discrimination repose sur une différence d'affinité mais aussi de stoechiométrie du précurseur Pr55Gag pour l'ARN génomique, comparé aux ARN viraux épissés [Bernacchi *et al. RNA Biol* 2017]. De façon surprenante, le domaine p6 joue un rôle majeur dans la spécificité d'interaction: sa délétion résulte en une fixation aspécifique de Gagp6 [Dubois *et al. RNA Biol* 2018], ce qui attribue une fonction inédite à ce domaine. Enfin, nous avons montré qu'il existe dans la partie 5' du génome une courte séquence qui ne lie pas directement Pr55Gag, mais qui favorise l'encapsidation de l'ARN génomique en recrutant la machine cellulaire de polyadenylation [Smyth *et al. Nucleic Acids Res* 2018].

C7

Course aux armements entre les virus et leur hôte : la multifonctionnalité des protéines contraint leur évolution à l'interface virus-hôte

Lucie Etienne

Centre international de recherche en infectiologie (CIRI), École normale supérieure (ENS) Lyon, Université Claude Bernard Lyon 1 (UCBL), CNRS : UMR5308, Inserm : U1111, Lyon, France

<lucie.etienne@ens-lyon.fr>

Les virus interagissent au cours de l'infection avec de nombreuses protéines cellulaires, dont les facteurs de restriction. Au cours de millions d'années de co-évolution entre les hôtes et les virus pathogènes, une course aux armements se met en place où chacune des parties évolue rapidement aux sites d'interaction afin de surmonter le plus récent avantage acquis par l'autre. Cependant, lorsque les protéines à l'interface virus-hôte sont multifonctionnelles, elles sont fortement contraintes dans leur capacité d'adaptation. Les protéines de l'hôte sont ainsi sous pression de sélection purifiante de par leurs fonctions cellulaires, mais également sous sélection diversifiante de par leur interface avec les pathogènes viraux. Quant aux protéines virales, elles doivent soutenir de nombreuses fonctions sur des tailles de génomes réduites, ce qui les contraint fortement dans leur adaptation. Comment les protéines cellulaires réconcilient-elles les pressions de sélection contraires au cours de millions d'années de co-évolution avec les virus pathogènes ? Et comment les virus s'adaptent-ils en retour, en particulier lors d'une transmission inter-espèces ? De récents travaux du laboratoire sur ces thématiques seront présentés, en particulier sur les « conflits évolutifs » entre les hépadnavirus (VHB) et les lentivirus (VIH) avec les complexes et facteurs de restriction Smc5/6 et HUSH. Nous discuterons enfin comment nos travaux actuels dans le but de découvrir de nouvelles protéines aux interfaces virus-hôte utilisent des criblages évolutifs qui prennent en compte ces contraintes adaptatives.

C8

Modèle d'infection 3D pour les virus respiratoires

Caroline Tapparel Vu

Département de microbiologie et de médecine moléculaire, Faculté de médecine, Université de Genève, Genève, Suisse

<caroline.tapparel@unige.ch>

Les virus respiratoires représentent les principales causes d'infections aiguës dans le monde. Généralement responsables de maladies bénignes, ils peuvent néanmoins causer de graves complications dans les populations à risque. Malgré cet impact clinique et malgré un impact économique non négligeable, les traitements actuels sont principalement des traitements symptomatiques et aucun antiviral ni vaccin efficace n'est disponible contre ces virus (à l'exception du virus de la grippe). Une meilleure compréhension de leur pathogenèse est donc cruciale pour développer de nouvelles thérapies antivirales. L'absence de modèles animaux adaptés

complique ces recherches. Bien que ne reproduisant pas complètement la complexité de la physiologie humaine, des modèles de culture tissulaire 3D permettent d'étudier adéquatement les premiers stades des infections respiratoires. Des épithéliums respiratoires humains, reconstitués *in vitro* à partir de cellules primaires isolées de biopsies nasales ou bronchiales et cultivés à l'interface air-liquide, reproduisent fidèlement l'architecture pseudostratifiée de l'épithélium respiratoire humain, composé de cellules basales, de cellules ciliées et de cellules à mucus, ainsi que ses mécanismes de défense (la clairance mucociliaire et l'immunité innée des cellules épithéliales). En utilisant ces modèles, nous avons pu cultiver et caractériser des rhinovirus de l'espèce C qui ne se multiplient pas dans des cellules standards. Nous avons également pu comparer la pathogénèse des virus respiratoires les plus répandus dans des tissus respiratoires issus de donneurs sains ou asthmatiques. Enfin, nous avons utilisé ces modèles pour tester l'activité antivirale à large spectre de nouveaux nanomatériaux mimant les héparanes sulfate ou l'acide sialique, deux récepteurs d'attachement cellulaire utilisés par de nombreux virus.

C9

Comment le virus Zika induit des microcéphalies

Laurent Nguyen

GIGA-Stem Cells, Interdisciplinary Cluster for Applied Genoproteomics (GIGA-R), University of Liège, C.H.U. Sart Tilman, Liège, Belgique
<lnguyen@uliege.be>

Il existe un lien de causalité entre l'infection par le virus Zika (ZIKV) pendant la grossesse et la microcéphalie congénitale. Toutefois, le mécanisme de la microcéphalie associée à l'infection par ZIKV n'est pas connu. Afin d'élucider ce mécanisme, nous avons combiné l'analyse d'échantillons cérébraux de fœtus humains infectés par ZIKV et de cellules souches neurales humaines en culture avec l'étude d'embryons murins *in vivo*. Après l'inoculation intracérébrale ou intraplacentaire de ZIKV dans les embryons de souris, nous démontrons que ce virus induit du stress du réticulum endoplasmique dans les cerveaux embryonnaires murins. Cela perturbe la réponse physiologique de repliement des protéines (*unfolded protein response*, UPR) qui contrôle la neurogénèse dans les progéniteurs corticaux. Ainsi, les progéniteurs infectés par le ZIKV génèrent moins de neurones de projection et ceux qui s'installent dans la partie mature du cortex cérébral sont éliminés en grande partie par apoptose. De plus, nous démontrons que l'administration d'inhibiteurs pharmacologiques de l'UPR prévient la microcéphalie dans les embryons de souris infectés par le ZIKV. Ces défauts sont spécifiques au ZIKV car ils n'ont pas été observés lors de l'injection intraplacentaire par d'autres flavivirus chez les souris.

C10

Evolution of virulence of an emerging RNA virus in homogeneous vs heterogeneous plant populations

Rubén González, Francisca De La Iglesia, Anamarija Butković, Santiago Elena

CSIC-UV (I2SysBio), Parc Científic UV Catedrático Agustín Escardino 9 46980 Paterna (Valencia), Espagne
<santiago.elena@uv.es>

The emergence and re-emergence of viral pathogens is a major problem for plant, animal and human health as well as for the long-term stability of ecosystems. Predicting when a virus will (re)emerge is an almost-impossible task due to the large number of low probability random factors that may influence it: e.g. the genesis of novel viral genotypes by mutation and recombination, the frequency of contacts between the reservoir and the novel hosts, the rates of dispersal of infected hosts, the rates of within-host evolution and adaptation of the emerging virus... One of the factors that have received recent theoretical attention is the diversity of hosts in terms of mechanisms of resistance/tolerance to infection. Eco-evolutionary theory predicts that emergence is more likely to occur when the host population contains an intermediate proportion of resistant hosts and that it decreases

as the diversity of resistance genes in the host population increases. To test these predictions, we conducted an evolution experiment using the pathosystem turnip mosaic potyvirus (TuMV)-*Arabidopsis thaliana*. We designed two different experiments. In the first one, viral lineages evolved in homogeneous populations of the plant that differ in their degree of susceptibility to infection (different natural ecotypes and mutant genotypes). In the second one, at each passage, viral lineages were exposed to a heterogeneous population of plant ecotypes with differences in susceptibility to TuMV infection. All lineages were evolved by a number of serial passages and virulence was evaluated at the end of each passage. The experiment was replicated twice. Firstly, in agreement with theory, we have observed that the rate of virulence evolution is greater for the TuMV lineages evolved in homogeneous host populations than for those evolved in the heterogeneous host populations. Secondly, at the end of the experiment we evaluated the whole infection matrices for each evolved lineage on each potential *A. thaliana* host ecotype. We found that the infection matrix was significantly nested for those lineages evolved in the homogeneous host populations, meaning that lineages evolved in the most resistant ecotypes were, on average, more virulent across the entire panel of plant ecotypes than those evolved in more permissive ecotypes. In other words, highly resistant ecotypes imposed a hard selection regime that favored highly virulent TuMV, while permissive ecotypes imposed a weak selection regime that selected for mild viruses. By contrast, the infection matrix for lineages evolved in the heterogeneous host population lack of any significant structure, suggesting that fluctuating selection avoids fixation of beneficial alleles in the viral population. Currently, we are characterizing the genetic variability in every TuMV evolved lineage to explore the molecular basis of the evolutionary processes described above.

C11

Multicomponent viral systems

Yannis Michalakakis¹, Stéphane Blanc²

¹ *Maladies infectieuses et vecteurs : écologie, génétique, évolution et contrôle (Mivegac), CNRS, IRD : UMR224, Université de Montpellier, France*

² *Biologie et génétique des interactions plante-parasite (BGPI), INRA, Cirad, Montpellier SupAgro, France*
<yannis.michalakakis@ird.fr>

Viral genome organization can be categorized into three major types: i) monopartite viruses have their whole genetic information encoded by a single nucleic acid molecule encapsidated into a single virus particle; ii) segmented viruses have a genome of two or more segments, all encapsidated together in a single virus particle; iii) multipartite viruses also have their genome made of two or more segments, but these segments are each encapsidated in a distinct virus particle. If it is true that successful infection requires all genome components to be present in the same cell, then segmented and multipartite viruses have to ensure that their genomic information is appropriately packaged and transmitted. Failing to do so could incur a very large cost. We will briefly discuss various solutions adopted by viruses to circumvent or at least limit this cost (e.g. specific packaging; random packaging; collective transmission). We will also discuss potential benefits of the multipartite genomic architecture (reassortment; modulation of gene expression through gene copy number variation). We will point to similarities and differences across different viral systems with 'genomes in several pieces' including the above mentioned multipartite and segmented viruses as well as satellites, defective and defective interfering particles or mobile genetic elements.

C12

Pinces magnétiques pour l'étude de la réplication virale en molécule unique

David Dulin

Friedrich-Alexander Universität Erlangen-Nürnberg (FAU), Erlangen, Germany, Allemagne
<david.dulin@uk-erlangen.de>

Les virus à ARN représentent un important groupe de pathogènes humains, et le développement de stratégies antivirales fait donc l'objet d'un intense effort de recherche de la part de la communauté scientifique. En particulier, l'étape cruciale de la réplication du génome viral représente une cible importante pour le développement de molécules spécifiquement inhibitrices de la réplication virale. La réplication du génome viral est accomplie par l'ARN polymérase virale, aussi appelée RdRp par son acronyme anglais, dont le site catalytique est grandement conservé parmi les différents virus à ARN. De plus cette polymérase virale est aussi grandement responsable de l'évolution et de l'adaptation du virus en incorporant des mutations à un taux précis. En conséquence, il est essentiel de comprendre précisément le mécanisme d'incorporation des nucléotides par les polymérases virales. Pour étudier la réplication virale, les approches de biologie moléculaire sont généralement utilisées pour effectuer des mesures d'ensemble de l'activité de réplication, comme par exemple les mesures en « *stop/quick flow* ». Si ces méthodes donnent accès à une précision temporelle de la milliseconde sur la vitesse d'incorporation moyenne des nucléotides (nt) sur de courtes séquences nucléiques, *i.e.* ≤ 10 nt, elles ne permettent pas en revanche d'observer des événements rares, comme l'incorporation de mutations lorsque tous les nucléotides sont présents durant la réaction. Pour observer de tels événements, il est nécessaire d'utiliser des techniques dites en molécules uniques, qui permettent d'observer l'activité de polymérase virales une à une, et donc d'observer la signature cinétique (une pause par exemple) de l'incorporation d'un nucléotide non-codé. Durant cette présentation, je vais décrire en particulier une méthode en molécule unique, *i.e.* les pinces magnétiques, qui permettent d'observer la cinétique d'incorporation de nucléotides avec une résolution spatiale de ~ 1 nm et temporelle de ~ 0.1 s, et ceci en utilisant un substrat long de plusieurs kilobases, *i.e.* une longueur équivalente à celle du génome des virus à ARN. De plus, les pinces magnétiques permettent d'acquies une grande statistique très rapidement, *i.e.* des dizaines de traces simultanément, et donc de capturer des événements aussi rares que les erreurs d'incorporation durant la réplication virale ($\sim 10^{-3}$ - 10^{-4}). Je présenterai l'application des pinces magnétiques à l'étude de la cinétique de réplication des polymérases virales du bactériophage à ARN double brin $\Phi 6$, de poliovirus et du rhinovirus C (ARN simple brin positif, entérovirus), en fonction de la concentration en nucléotides et de la température. Finalement, je décrirai comment l'incorporation de différents types de nucléotides analogues affecte l'activité de réplication de la polymérase de poliovirus.

C13

Assemblage du virus de l'hépatite C : du « *clustering* » des composants viraux à l'enveloppement et la lipidation des particules

François-Loïc Cosset

Centre international de recherche en infectiologie (CIRI), École normale supérieure - Lyon, Université Claude-Bernard Lyon 1, Inserm U1111, CNRS UMR5308, Lyon, France
<flcosset@ens-lyon.fr>

Le virus de l'hépatite C (VHC) est détecté dans les sérums de patients infectés sous forme de particules infectieuses lipidées de très faibles densités, associées à des lipides neutres et des apolipoprotéines. Le VHC est un virus enveloppé dont l'assemblage de particules virales se produit à la membrane du réticulum endoplasmique consécutivement au clivage séquentiel de sa polyprotéine et à sa maturation en protéines structurales et non structurales. Nos travaux récents ont visé à mieux comprendre les mécanismes d'assemblage, d'enveloppement et de sécrétion des particules infectieuses, ainsi que de maturation des particules virales en virus de faible densité. Dans une première étude, nous avons disséqué la connexion fonctionnelle entre les complexes de réplication et les sites d'assemblage, permettant le transfert du génome viral dans les particules virales en cours de formation. Dans une seconde étude, nous avons montré que p7, la viroporine du VHC, ralentissait de manière dose-dépendante le trafic ER-Golgi, conduisant à une rétention intracellulaire de la glycoprotéine de surface virale E2. En outre, nous avons montré que le clivage du précurseur protéique E2p7

contrôle l'expression intracellulaire de E2 et les niveaux de sécrétion des particules subvirales et des virions infectieux. Enfin, nous avons également mis en évidence que l'extrémité N-terminale de p7 gouverne l'infectivité spécifique des particules en coordonnant la rencontre des composants de la nucléocapside avec les glycoprotéines, mais aussi l'enveloppement de la nucléocapside. Dans une troisième étude, nous avons découvert des fonctions et des facteurs spécifiques du sérum, des cellules productrices et des séquences du VHC qui modulent la lipidation des particules virales au cours de leur assemblage et de leur sécrétion. Au total, ces différents travaux ont contribué à mieux comprendre les étapes de l'assemblage du VHC et les mécanismes modulant i) le transfert des ARN viraux des complexes de réplication vers les sites d'assemblage, ii) la rencontre des nucléocapsides et des glycoprotéines, et enfin, iii) l'acquisition de lipides par des particules virales; toutes ces étapes étant essentielles à la formation de particules entièrement infectieuses.

C14

Les usines du virus de la rage se forment dans le cytoplasme de la cellule hôte par séparation de phase liquide

Yves Gaudin

Institut de Biologie intégrative de la cellule (I2BC), CEA, CNRS : UMR9198, Université Paris XI Paris Sud, Gif-sur-Yvette, France
<yves.gaudin@i2bc.paris-saclay.fr>

La réplication des *Mononegavirales* (MNV) a lieu dans des usines virales qui forment des inclusions dans le cytoplasme de la cellule hôte. Pour le virus de la rage, ces inclusions sont appelées corps de Negri. Les corps de Negri sont sphériques, ils fusionnent entre eux pour former des structures plus grandes et ils sont très sensibles à leur environnement physico-chimique. Ceci suggérait qu'ils sont de nature liquide, ce que nous avons définitivement démontré par des expériences de FRAP. Les corps de Negri constituent donc une nouvelle catégorie d'organites liquides. Ces organites se forment par séparation de phase liquide et contribuent à la compartimentation de la cellule eucaryote. Ce sont des structures dynamiques qui s'assemblent et se désassemblent beaucoup plus rapidement que les organites membranaires. Ces compartiments interviennent dans une large gamme de processus cellulaires. Cependant, les bases moléculaires à l'origine de la séparation de phase restent largement inconnues. Dans le cas du virus de la rage, la co-expression des protéines N et P donne des inclusions cytoplasmiques qui récapitulent les propriétés des corps de Negri. Ce système minimal révèle qu'un domaine intrinsèquement désordonné et le domaine de dimérisation de P sont essentiels à la formation de ces structures. Les données de la littérature suggèrent que la formation d'usines virales liquides par séparation de phase est commune aux MNV. Elle permet le recrutement et la concentration spécifique de protéines virales mais aussi probablement l'échappement à la réponse antivirale de la cellule infectée. La découverte du caractère liquide des usines virales est donc un changement de paradigme dans le domaine de la réplication des MNV qui nous invite à reconsidérer l'interaction entre ces usines et les composants de l'immunité innée cellulaire mais aussi la façon dont vont se dérouler certaines étapes cruciales du cycle viral. Enfin, cette découverte permet d'attribuer aux virus une nouvelle qualité propre aux organismes vivants : la capacité à distinguer le soi du non-soi. Le caractère liquide de l'usine virale permet en effet au virus de garder son identité dans la cellule infectée.

C15

Évolution du virus grippal

Bruno Lina^{1,2}

¹ Centre international de recherche en infectiologie (CIRI), Inserm U1111, CNRS : UMR5308, Université Claude Bernard Lyon 1, Université de Lyon, ENS Lyon, VirPath, 69007 Lyon, France

² Laboratoire de virologie CNR des virus respiratoire (dont la grippe), Institut des agent infectieux, HCL, Hôpital de la Croix-Rouge, Hospices civils de Lyon, 69004 Lyon, France
<bruno.lina@univ-lyon1.fr>

Les virus influenza humain et zoonotiques sont en constante évolution. Cette évolution repose sur la combinaison de deux mécanismes qui sont le réassortiment génétique et les mutations ponctuelles essentiellement observées sur les deux glycoprotéines de surface. L'évolution des virus influenza humains est l'un des enjeux majeurs de la surveillance de la grippe saisonnière. L'évolution de ces virus repose essentiellement sur l'accumulation de mutations observées sur l'hémagglutinine des virus, permettant un échappement à la réponse immunitaire préexistante. La caractérisation moléculaire détaillée des virus et l'utilisation de nouveaux modèles mathématiques venant de la biologie évolutive permettent d'avoir un suivi pratiquement en temps réel de l'évolution mondiale de ces virus à des fins de choix de composition vaccinale. En parallèle, ces outils permettent aussi de mieux comprendre l'évolution épigénétique de ces virus, la balance Ha-Na, et de détecter des marqueurs qui peuvent signifier un *fitness* accru, un risque de virulence augmenté, ou le risque d'acquisition spontanée de substitutions associées à la résistance aux antiviraux. Enfin, l'évolution des virus peut aussi conduire à l'émergence de virus pandémiques. En 1957, 1968 et 2009, les virus influenza pandémiques sont apparus à la suite de phénomènes de réassortiment génétique entre virus humains et zoonotiques. Les mécanismes moléculaires permettant ce réassortiment sont de mieux en mieux compris, même s'il reste difficile de prédire le niveau de risque lorsqu'émerge un virus zoonotique à potentiel pandémique. L'étude des interactions ARN/ARN, l'analyse du potentiel d'assemblage de complexes à 8 segments de gènes d'origine hétérogène et les études du fitness des virus émergents sont des axes de recherche très actifs pour permettre une meilleure analyse du risque pandémique.

C16

Reconstruction de la dynamique des anticorps et de l'historique des infections pour évaluer les risques liés à la dengue

Henrik Salje^{1,2,3,4}, Derek A.T. Cummings^{4,5,6}, Isabel Rodríguez-Barraquer⁷, Leah C. Katzelnick⁵, Justin Lessler⁴, Chonticha Klungthong⁸, Butsaya Thaisomboonsuk⁸, Ananda Nisalak⁸, Alden Weg⁸, Damon Ellison⁸, Louis Macareo⁸, In-Kyu Yoon⁹, Richard Jarman¹⁰, Stephen Thomas¹¹, Alan L. Rothman¹², Timothy Endy¹¹, Simon Cauchemez^{1,2,3}

¹ *Mathematical Modelling of Infectious Diseases Unit (MMID), Institut Pasteur, Paris, France*

² *Génomique évolutive, modélisation et santé (GEMS), Institut Pasteur, CNRS : UMR2000, Paris, France*

³ *Center of Bioinformatics, Biostatistics and Integrative Biology, Institut Pasteur, Paris, France*

⁴ *Department of Epidemiology, Johns Hopkins Bloomberg School of Public Health, Johns Hopkins University, Baltimore, MD, États-Unis*

⁵ *Department of Biology, University of Florida, Gainesville, FL, États-Unis*

⁶ *Emerging Pathogens Institute, University of Florida, Gainesville, FL, États-Unis*

⁷ *University of California, San Francisco, San Francisco, CA, États-Unis*

⁸ *Department of Virology, Armed Forces Research Institute of Medical Sciences, Bangkok, Thaïlande*

⁹ *International Vaccine Institute, Seoul, Corée du Sud*

¹⁰ *Viral Diseases Branch, Walter Reed Army Institute of Research, Silver Spring, MD, États-Unis*

¹¹ *Department of Medicine, Upstate Medical University of New York, Syracuse, NY, États-Unis*

¹² *Institute for Immunology and Informatics, Department of Cell and Molecular Biology, University of Rhode Island, Providence, RI, États-Unis*

<simon.cauchemez@pasteur.fr>

Comme pour de nombreux autres pathogènes, la majorité des infections de dengue sont asymptomatiques et ne sont donc pas détectées. Ce problème d'observation couplé à une compréhension limitée des dynamiques des marqueurs sérologiques de l'infection impacte fortement notre capacité à évaluer les corrélats de l'infection et de la maladie au niveau individuel, ainsi que les dynamiques de l'immunité au niveau populationnel. Nous

avons développé une approche d'analyse bayésienne permettant à la fois de caractériser la dynamique des anticorps et d'identifier les infections asymptomatiques à partir de données détaillées de cohorte (3451 individus ayant un prélèvement sanguin réalisé en moyenne tous les 91 jours ; 143 548 tests d'inhibition de l'hémagglutination). Nous avons identifié dans la cohorte 1149 infections (intervalle de confiance à 95 % IC 95 %, 1135-1163) qui n'avaient pas été détectées par la surveillance active et estimé que 65 % des infections étaient asymptomatiques. Nous trouvons que le niveau d'anticorps se stabilise un an après l'infection, et que la valeur atteinte détermine si la personne infectée est à l'intérieur ou à l'extérieur d'une fenêtre de risque. Les individus avec un titre de base $\leq 1:40$ ont un risque 7,4 fois (IC 95 %, 2,5-8,2) plus élevé de développer une fièvre hémorragique que les individus naïfs, comparé à 0,0 fois (IC 95 %, 0,0-1,3) pour les individus avec un titre de base $> 1:40$. Au niveau populationnel, la variabilité de la taille des épidémies donne lieu à des variations importantes du risque d'infection et de maladie, qui corrélatent mal avec l'âge des individus. Les approches présentées ici peuvent être appliquées à d'autres maladies infectieuses où un suivi sérologique longitudinal est réalisé, permettant de mieux comprendre les dynamiques individuelles et populationnelles du risque.

P0

Présentation de la section Jeune Microbiologiste (SFM-JM) de la Société Française de Microbiologie (SFM)

Alexandre Gaymard^{1,2}, Maxime Pichon

Laboratoire de virologie, Institut des agents infectieux, Groupement hospitalier Nord, Hospices civils de Lyon, France

² Équipe Virpath, CIRI, Inserm, U1111, Université Claude Bernard Lyon 1, CNRS, UMR5308, École normale supérieure de Lyon, Univ Lyon, F-69007, Lyon, France

<alexandre.gaymard@chu-lyon.fr>

La microbiologie est un domaine extrêmement vaste de par les disciplines qu'il regroupe mais également par l'origine professionnelle des microbiologistes exerçant dans de nombreux secteurs d'activités. Les jeunes microbiologistes, qu'ils soient en cours de formation ou débutant leurs carrières professionnelles, sont des acteurs majeurs de son développement en France. Malgré cela la circulation des informations (postes, formations, projets en cours...) et les échanges entre disciplines restent aujourd'hui encore assez difficile. Pour faciliter la représentation de ces jeunes, un groupe de microbiologistes, avec le soutien du Pr Gérard Lina (président de la SFM), a créé au sein de la SFM une nouvelle section dédiée aux jeunes microbiologistes. Cette section transdisciplinaire est composée de microbiologistes aux profils (internes de biologie médicale, AHU, MCU-PH, MCU, étudiant d'université ou doctorants...), à la discipline (virologie, bactériologie, parasitologie, hygiène hospitalière...) et à la répartition géographique variés (Lyon, Montpellier, Poitiers, Paris, Reims...). La seule condition pour s'inscrire à cette section est un critère d'âge.

Objectifs. La section Jeunes Microbiologiste de la SFM (SFM) s'est dotée d'objectifs précis : mise en réseaux des jeunes microbiologistes de tous horizons (médicaux et non médicaux). Renforcement des liens avec les autres acteurs du paysage scientifique français et international afin de mettre en place des collaborations (Escmid, FEMS, ASM, SFV, SF2H, Instituts Pasteur, AgroParisTech...). Valorisation des travaux de jeunes microbiologistes et aide à l'intégration dans les congrès (Eccmid, Rical, SFM, JNI, JFV...). Mise en place d'une structure d'information sur les possibilités d'initiation et de poursuite de carrière en microbiologie (master 2, thèse de doctorat, post-doctorat, mobilité, postes universitaire ou non universitaire...). Diffusion d'informations sur les appels à projet, à financement, à collaboration pouvant concerner les jeunes microbiologistes (offre emploi, appel d'offre, offre de stage...) ainsi qu'une veille scientifique (relais des publications). Partenariat avec les structures de formation initiale (universités, écoles doctorales) ou de formation continue. La section SFM-JM a déjà été active au cours de plusieurs congrès et les Journées francophones de virologie à Lyon en mars 2019 sont une formidable opportunité pour pouvoir rencontrer et promouvoir cette section

auprès des virologues français, la virologie étant une discipline majeure de la microbiologie. De plus la Société française de virologie est une société savante incontournable dans ce domaine et un partenaire majeure de la SFM.

C17

Évolution de la variabilité génétique des bactériophages

Marianne De Paepe, Marie-Agnès Petit, Geoffrey Hutinet, Marina Elez
Micalis, INRA : UMR1319, France
<marianne.depaepe@inra.fr>

Les virus comme les bactériophages ont de très fort taux de mutations et d'acquisition de générant une forte variabilité génétique. Les comparaisons génomiques montrent que les échanges de gènes entre génomes viraux sont essentiellement observés entre génomes ayant un contenu en gènes similaire. Nous avons étudié les mécanismes moléculaires à l'origine de ces échanges chez les phages lambda et Phi80, infectant *Escherichia coli*. Nous avons montré que l'acquisition de gène est strictement limitée aux régions d'homologie ayant au moins 88 % d'identité. Ces échanges sont dépendant d'au moins une enzyme de recombinaison

homologue, soit RecA, la recombinaison bactérienne, soit Red β , la recombinaison phagique. Le rôle de Red β est d'autant plus important que les régions d'homologie sont courtes et divergent. De plus, le système de réparations des mésappariements d'*E. coli*, qui normalement empêche ces échanges entre séquences divergées, est pratiquement inactivé pendant le cycle lytique, participant au fort taux d'échanges génétiques comme de mutagenèse. Je discuterai les analogies entre la recombinaison chez les phages et les virus, et en particulier des résultats récents suggérant que la recombinaison bactérienne RecA agit aussi sur les génomes d'Adénovirus.

C18

Signatures des réponses de l'hôte pour le diagnostic et le pronostic des infections respiratoires virales

Manuel Rosa-Calatrava
Centre international de recherche en infectiologie (CIRI), Université Claude Bernard Lyon I (UCBL), CNRS : UMR5308, Université de Lyon, ENS Lyon, Inserm U1111, 69008 Lyon, France
<manuel.rosa-calatrava@univ-lyon1.fr>

(Non communiqué.)