

A3.41

IDENTIFICATION DE PROTÉINES IMPLIQUÉES DANS LA POLYADÉNYLATION ALTERNATIVE LORS DE L'INFECTION PAR LE VIRUS HERPÈS SIMPLEX 1.

H. Hyjazie, A. Pearson

INRS - Institut Armand-Frappier, Laval, Qc.

Plus de 80% de la population est infectée par le virus de l'herpès simplex 1 (VHS-1). Ce virus qui cause des infections aux muqueuses mène aussi à des infections sévères chez les nouveaux-nés et les individus immuno-supprimés. Le VHS-1 est un virus enveloppé à ADN double brin codant pour plus de 80 gènes, et donc nécessite une régulation génétique efficace. Parmi les modes de régulation employés par le virus est celle de la polyadénylation alternative : une régulation post-transcriptionnelle qui permet au même gène d'utiliser deux sites de polyadénylation différents. Ceci est observé, entre autres, pour les gènes UL24 et UL38 qui utilisent leur propre signal de polyadénylation (signal polyA) ainsi que celui des gènes UL26 et UL40 respectivement. Pour mieux comprendre la régulation de l'expression de ces gènes, nous voulons identifier les protéines interagissant avec la région 3' non-traduite (3' UTR) de ces transcrits. Nous allons utiliser un épitope d'ARN qui est reconnu par la streptavidine, fusionné avec l'ARN correspondant aux 3'UTR des gènes. L'ARN généré sera immobilisé sur billes d'agarose, et cette matrice sera utilisée pour purifier des protéines qui se lient à l'ARN. Nous avons cloné l'épitope de la streptavidine dans pSK-Bluescript ainsi que les 3' UTR d'UL24, UL26, UL38 et UL40. Les 3' UTR codent pour la séquence hexamérique AAUAAA ainsi que les régions en amont et en aval de cette séquence qui seraient potentiellement impliquées dans l'efficacité de la polyadénylation. Les ARNs seront produits par transcription in vitro avec la polymérase d'ARN du phage T3. Des lysats cellulaires seront produits à différents temps post-infection, et les protéines qui interagissent avec les ARNs seront purifiées à l'aide de la colonne streptavidine. Les protéines seront ensuite migrées sur un gel polyacrylamide dénaturant. L'identification des protéines interagissantes sera faite par spectrométrie de masse et par Western blot. Ces expériences nous permettront d'identifier les composantes nécessaires pour moduler l'expression de ces gènes viraux dépendamment du signal polyA favorisé et pourraient expliquer pourquoi ce phénomène est observé durant une infection par le VHS-1.