



Analyse transcriptome des réponses de l'hôte
à des infections
de l'épithélium respiratoire par *S. aureus*
et de l'estomac par *H. pylori*.

Depuis 2000, plus de 40 articles traitent de HIV & microarray.

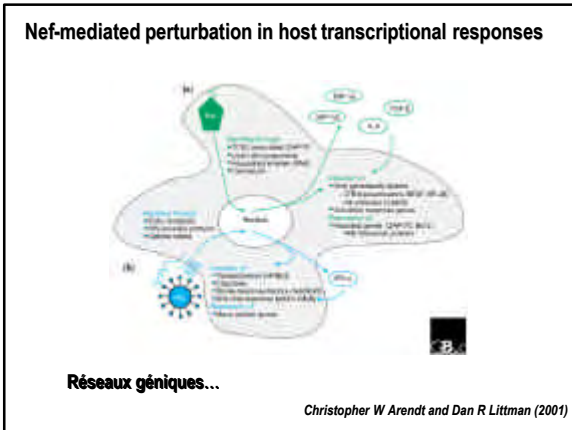
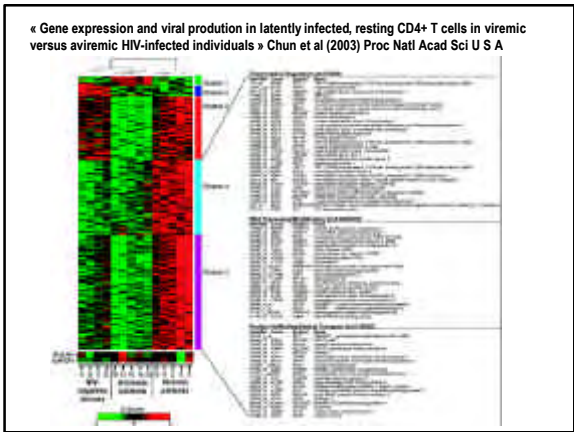
- Geiss et coll (2000) Virology «Large-scale monitoring of host cell gene expression during HIV-1 infection using cDNA microarrays »
- van 't Wout (2003) J. Virol. «Cellular gene expression upon human immunodeficiency virus type 1 infection of CD4(+) T-cell lines »

G2) arrest of HIV-1-infected cells induced by Vpr. Alteration of genes involved in cell division and transcription, of a family of DEAD-box proteins (RNA helicases), and of all genes involved in translation and splicing. Activation of EGFR1 and of JUN. Comparison of gene expression profiles after HIV-1 infection and after heat shock, interferon, or influenza A virus treatment indicated that HIV-1 infection largely induced specific changes. Thus, microarray analysis confirmed several known HIV-1 host cell interactions and permitted identification of specific cellular pathways not previously implicated in HIV-1 infection.

- Izmailova et al (2003) Nature Med. "HIV-1 Tat reprograms immature dendritic cells to express chemoattractants for activated T cells and macrophages"

Immature dendritic cells are among the first cells infected by retroviruses after mucosal exposure. We explored the effects of human immunodeficiency virus-1 (HIV-1) and its Tat transactivator on these primary antigen-presenting cells using DNA microarray analysis and functional assays. We found that HIV-1 infection or Tat expression induces interferon (IFN)-responsive gene expression in immature human dendritic cells without inducing maturation. Among the induced gene products are chemokines that recruit activated T cells and macrophages, the ultimate target cells for the virus. Dendritic cells in the lymph nodes of macaques infected with simian immunodeficiency virus (SIV) have elevated levels of monocyte chemoattractant protein 2 (MCP-2), demonstrating that chemokine induction also occurs during retroviral infection in vivo. These results show that HIV-1 Tat reprograms host dendritic cell gene expression to facilitate expansion of HIV-1 infection.

- Moir et al (2004) J Exp Med « Decreased survival of B cells of HIV-viremic patients mediated by altered expression of receptors of the TNF superfamily ».
- Argyropoulos et al (2004) Genes Immun « Mining microarray data to identify transcription factors expressed in naive resting but not activated T lymphocytes ».
- George et al (2005) J Virol « Early antiretroviral therapy for simian immunodeficiency virus infection leads to mucosal CD4+ T-cell restoration and enhanced gene expression regulating mucosal repair and regeneration ».



Puces à ADN: Pourquoi faire? Comment?

<http://rng.cnr.fr/contents.php3?origin=affymetrix> <http://rng.cnr.fr/contents.php3?origin=oligos>

Développement commercial en deçà des prévisions très optimistes d'il y a deux ou trois ans (~800M\$ en 2003 versus prévisions de 4000 à 5000 M\$);

Quel marché pour les microarrays à usage clinique?

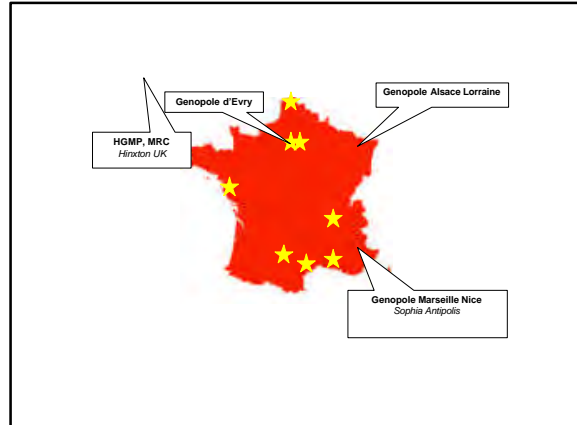
1 projet transcriptome = 20-50 lames minimum

Le coût élevé des expériences avec les puces commerciales (~1000 € par ARN) a justifié la mise en place d'une ressource nationale en oligos longs.

Une collaboration franco-anglaise en cours entre le réseau national Genopole™ et le MRC produit depuis 6 mois de façon standardisée des puces « homme » et « souris » à large couverture (environ 25 000 sondes pour chaque organisme).

Les objectifs du projet étaient:

- de renforcer les compétences dans un domaine stratégique;
- de réduire les coûts d'achat en oligonucléotides ;
- de mettre en place des outils collaboratifs de validation des puces, permettant une meilleure définition des sets, de mettre en place une uniformisation des méthodes expérimentales;
- D'offrir aux académiques un outil de qualité à bas prix (~25% prix commercial).

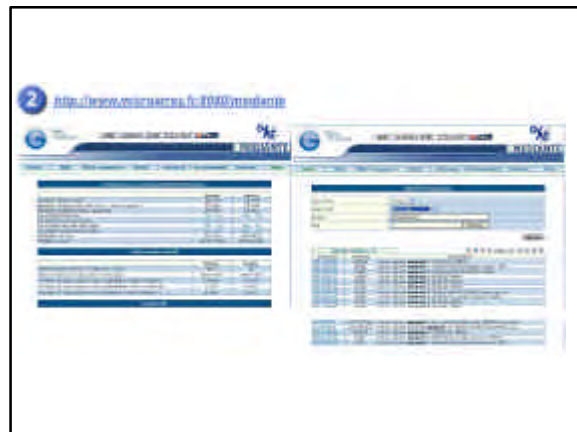


Mediante

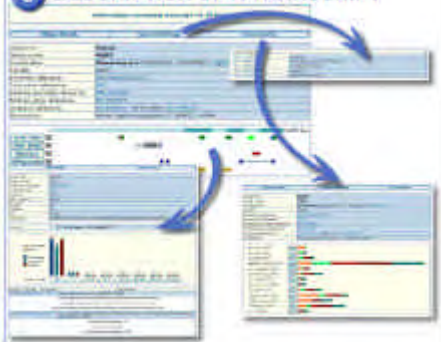
Création et développement au laboratoire

- outil de détermination des sondes
- stockage des données
- outil d'analyse

→ Validation des puces pangénomiques RNG



3 DESCRIPTION OF A TRANSCRIPT



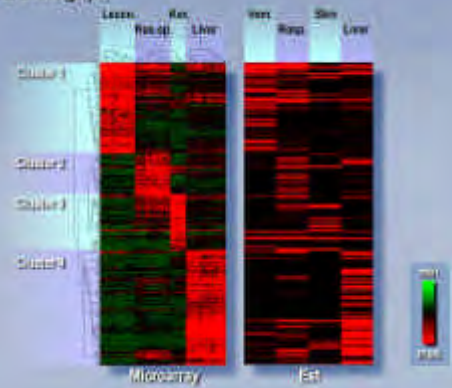
Sélection des sondes:



Sélection des sondes



Validation biologique



Staphylococcus aureus (*S. aureus*)

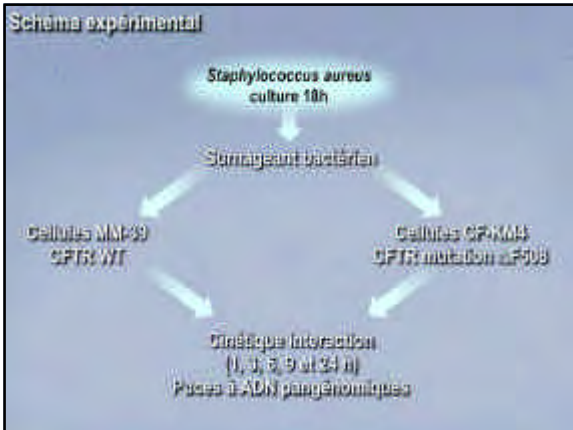
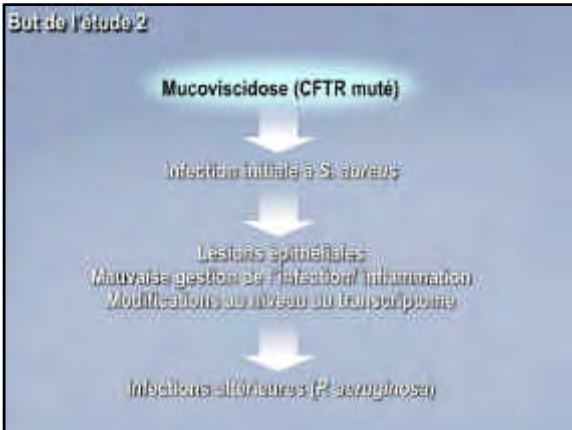
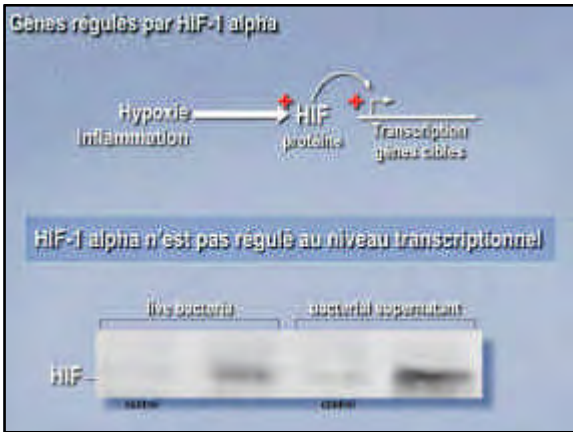
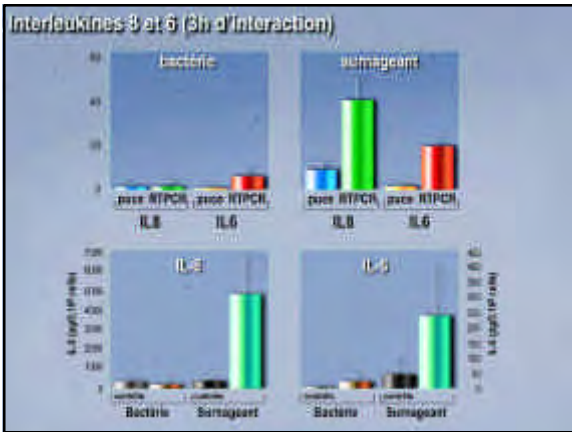
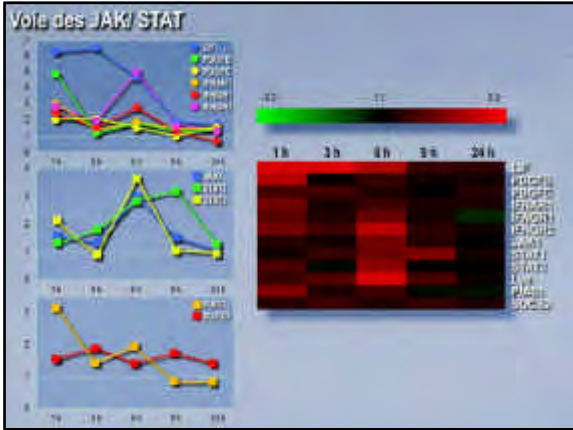
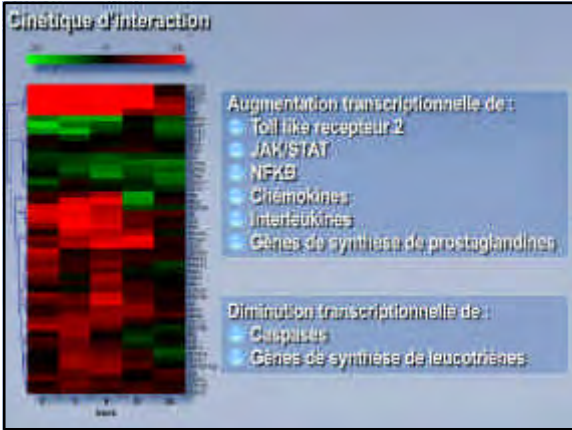
- Bactérie à Gram positif
- Cause principale des cas nosocomiaux de pneumonie et d'infections des blessures chirurgicales.
- Une des premières bactéries isolée dans les poumons des patients atteints de mucoviscidose)

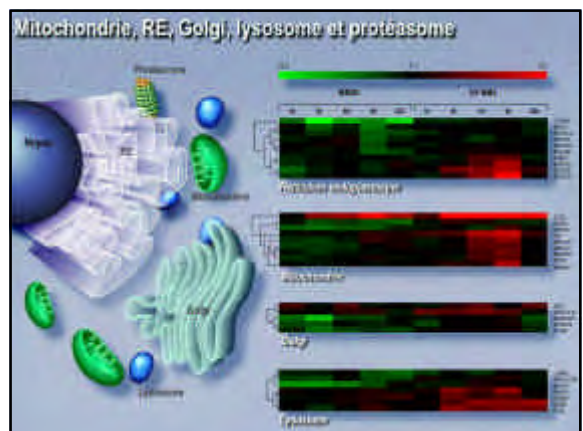
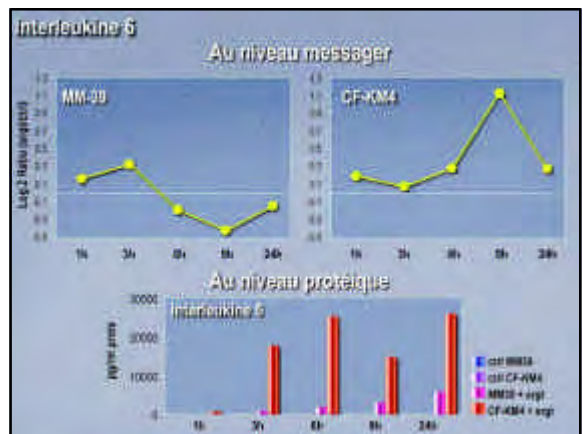
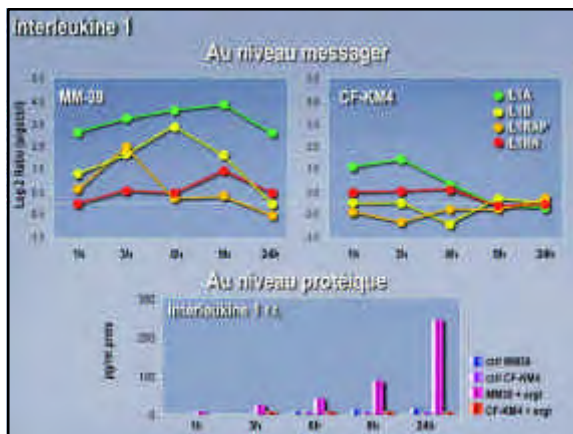
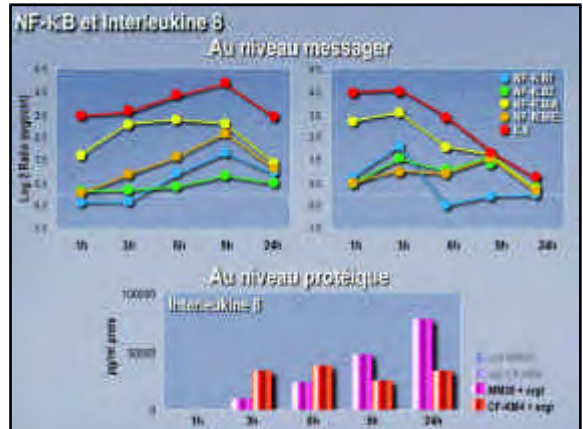
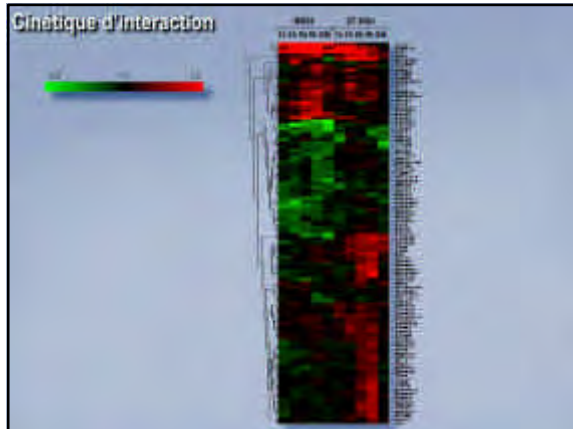
But de l'étude 1

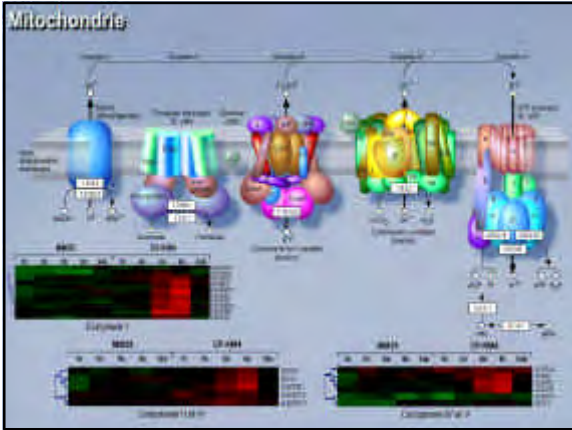
- Mettre en évidence les modulations transcriptionnelles après interaction avec le surageant bactérien
- Comparaison avec la bactérie vivante

Schema expérimental





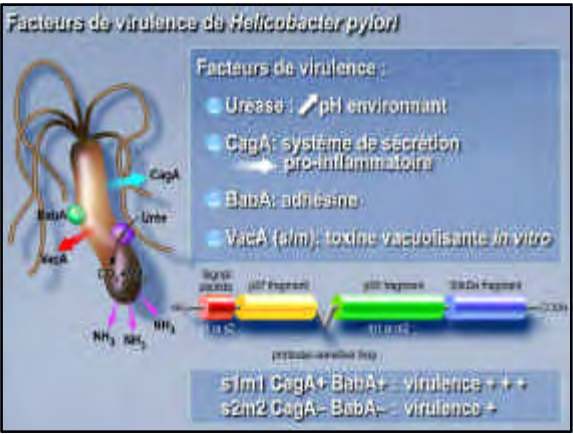
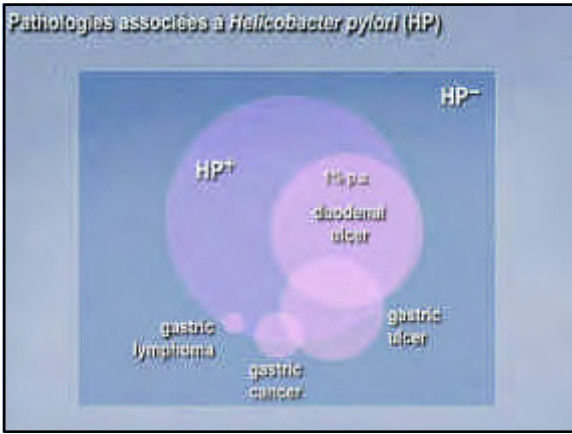
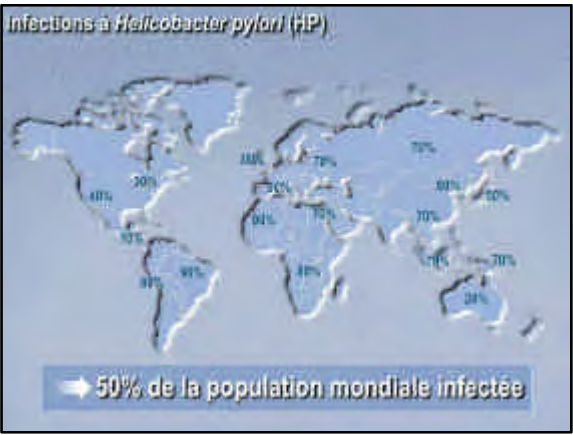




Résumé

Analyse in vitro

- Mise en évidence de réponses spécifiques à la bactérie ou aux facteurs de virulence
- Mise en évidence de réponses spécifiques selon le statut normal ou CF des cellules



But

Déterminer les gènes modulés dans l'antre et dans le fundus suite à une infection par *Helicobacter pylori*

Puce spécifique 1982 gènes

- cancer
- cicatrisation
- inflammation

Schéma expérimental

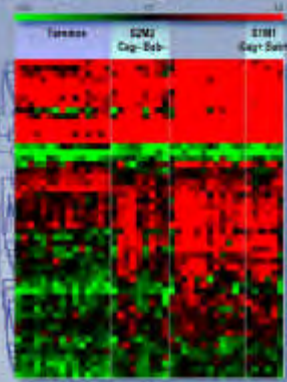
Recrutement patients :



- Biopsies
- Analyse histologique
- Examen direct : coloration Gram
- Test uréase
- Culture gélose
- Génotypage de la souche
- RNA later/ extraction ARN

FUNDUS : 16 infectés - 11 non infectés
ANTRE : 27 infectés - 15 non infectés

Clustering hiérarchique antre



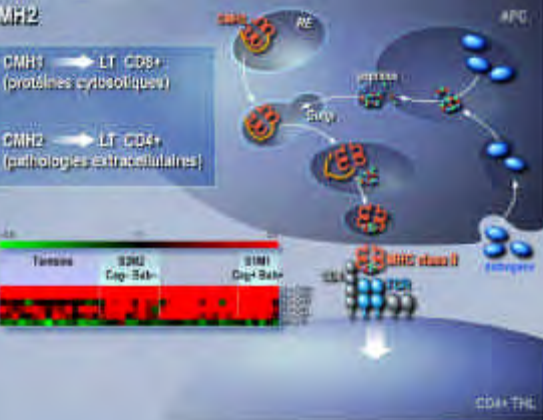
- Augmentation transcriptionnelle de :
- Chimokines
 - Protéines du complément
 - Protéases
 - TLR

Voie du complément

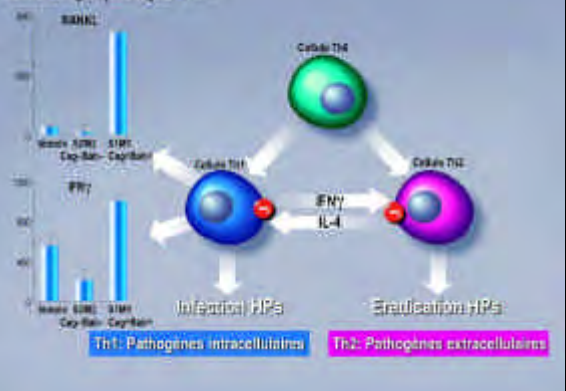


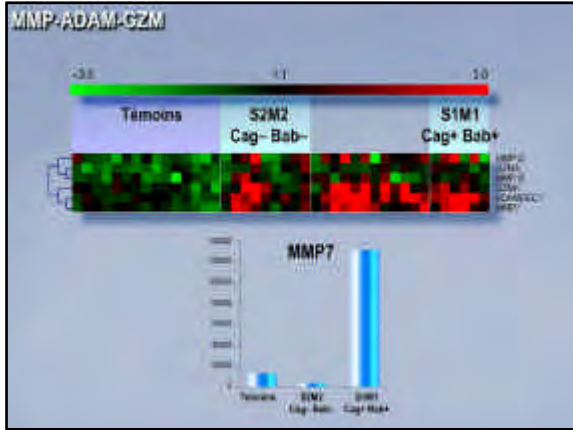
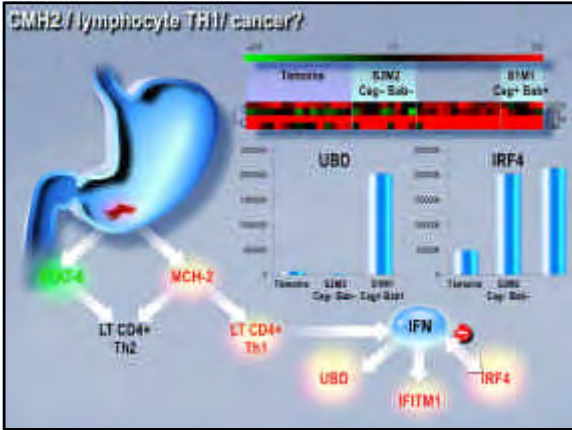
CMH2

- CMH1 → LT CD8+ (protéines cytosoliques)
- CMH2 → LT CD4+ (pathogènes extracellulaires)



CMH2 / lymphocyte TH1





Chromosome 5

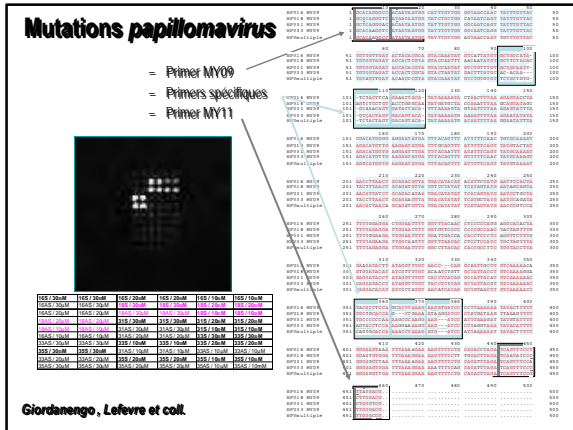
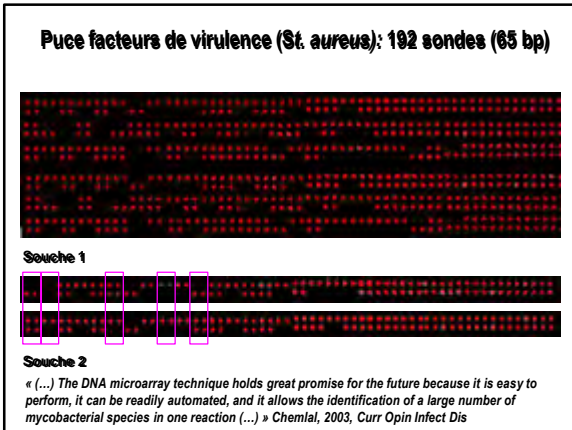
BF	6p21.32
C2	6p21.32
C4A	6p21.32
HLA-DMA	6p21.32
HLA-DPB1	6p21.32
HLA-DQB1	6p21.32
HLA-DRB4	6p21.32
HLA-DRB5	6p21.32
L7B	6p21.33
LST1	6p21.33
UBD	6p21.3
IRF4	6p25.3

L7B: lymphotxin beta (TNF superfamily, member 3)
LST1: leukocyte specific transcript 1

Résumé

Analyse in vivo

- Mise en évidence de nouveaux gènes
- Dans deux parties distinctes de l'estomac



C. Moreilhon, K. Le Brigand, V. Magnone, G. Rios, V. Defamie, P.
Rostagno, B. Mari, V. Virolle
D. Gras, C. Hologne, O. Bajolet, E. Puchelle
V. Hofman, P. Brest, P. Hofman
V. Giordanengo, JC Lefèvre
K. Khelif, R. Dieng
B. Jost, C. Bole-Feysot, P. Kastner
P. Soularue, F. Amiot, X. Gidrol
G. Williams, R. Russel, T.C. Freeman

CNRS UMR 6097, Institut de Pharmacologie Moléculaire et
Cellulaire

Inserm UMR514, Reims

Inserm 721, Nice

CHU Nice

INRIA - Sophia Antipolis

IGBMC - Illkirch

CEA - Evry

Microarray Programme, MRC Hinxton, UK