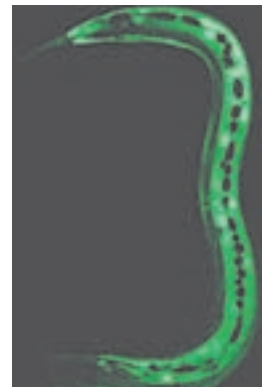


Arche de Noé immunologique

Mécanismes de défense du nématode *C. elegans*

Katja Ziegler, Nathalie Pujol

► Après s'être imposé comme organisme modèle dans plusieurs domaines de recherche en biologie comme le développement ou la neurobiologie, le nématode *Caenorhabditis elegans* est maintenant utilisé pour étudier les interactions hôte-pathogène. Les études de la réponse du nématode à l'infection par différents pathogènes bactériens et fongiques ont révélé que son système immunitaire inné utilise des voies de signalisation conservées au cours de l'évolution ; ces voies contrôlent l'expression des différentes molécules effectrices, dont certaines sont également conservées. Dans cette revue, nous exposerons les mécanismes généraux de défense du nématode pour ensuite nous concentrer sur la réponse immunitaire antifongique, objet de nos études actuelles. ◀



Centre d'immunologie de Marseille-Luminy (CIML), Inserm U631, CNRS, UMR6102, Université de la Méditerranée, Campus Luminy, Case 906, 13288 Marseille Cedex 9, France. pujol@ciml.univ-mrs.fr ziegler@ciml.univ-mrs.fr

C. elegans est un nématode non parasitaire vivant dans le sol, souvent trouvé sur des fruits en état de décomposition [1]. Il se nourrit de bactéries et est constamment exposé à de multiples pathogènes potentiels (Figure 1).

Certains pathogènes, bactéries à Gram négatif, Gram positif ou levures (comme *Cryptococcus neoformans*) sont ingérés comme source de nourriture et provoquent une infection dans l'intestin. D'autres bactéries produisent des toxines, comme *Bacillus thuringiensis* ou *Pseudomonas aeruginosa* dans certaines conditions de culture. *Microbacterium nematophilum* adhère à la région anale et provoque un type de gonflement de l'épiderme [2]. Des champignons ont, eux, élaboré une variété remarquable de pièges pour nématodes, en forme de lasso constricteur (*Drechlerella*), d'hameçon (*Harposporium*) ou de simples quilles adhésives, comme *Drechmeria coniospora* (Figure 2). Un autre eucaryote de type microsporidie, identifié récemment, est un parasite intracellulaire naturel du nématode, *Nematocida parisii* [3].

Comme c'est le cas pour tous les invertébrés, la défense contre les pathogènes de *C. elegans* dépend uniquement de son système immunitaire inné. Le ver possède trois

principaux mécanismes de défense. (1) Le premier est un comportement de fuite. Alors que la plupart des bactéries, sources potentielles de nourriture, attirent le nématode, certaines bactéries pathogènes provoquent au contraire un comportement d'évitement. Cette réponse de fuite est déclenchée par les neurones olfactifs et implique l'unique TLR (*toll-like receptor*) de *C. elegans*, TOL-1 [4] et une voie de signalisation en aval des récepteurs couplés aux protéines G (GPCR, *G protein coupled receptor*) [5]. (2) Des barrières physiques représentent le second mécanisme de défense. La cuticule, exosquelette du ver, formée de collagène et de chitine, est une première ligne de défense. Autre barrière, lors de l'ingestion de nourriture, le broyeur du pharynx empêche les bactéries ou levures de pénétrer intactes dans l'intestin (Figure 1), et des mutants dont le broyeur est défectueux sont plus sensibles aux infections bactériennes [6, 7]. (3) Enfin, *C. elegans* met en jeu des mécanismes inductibles de défense que nous discutons ci-dessous. Il faut noter que, contrairement aux insectes ou aux mammifères, *C. elegans* ne possède pas d'immunité cellulaire. Les cœlomocytes, seules cellules libres dans la cavité du corps, ne semblent pas capables de phagocyter des bactéries [8].

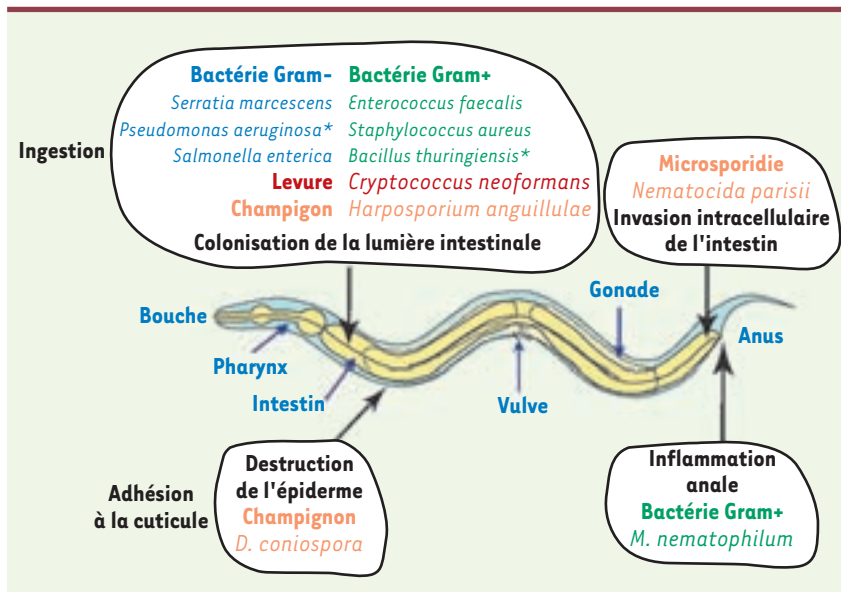


Figure 1. Schéma d'un nématode adulte et des différents modes d'infection. La plupart des pathogènes sont ingérés et établissent une infection dans la lumière intestinale. Certaines bactéries peuvent tuer le ver en libérant des toxines (*). La bactérie *M. nematophilum* et le champignon *D. coniospora* adhèrent à la cuticule et infectent *C. elegans* par son épiderme. La liste des pathogènes n'est pas exhaustive.

chez les plantes, la drosophile [18] et les mammifères [19].

Voies de signalisation

Plusieurs cascades de signalisation sont activées en fonction du pathogène conduisant soit à la production de molécules effectrices, par exemple les lysozymes, qui pourront détruire les pathogènes, soit à d'autres réponses cellulaires qui protégeront l'organisme, telles que la production de ROS (*reactive oxygen species*) [20] ou la réponse UPR (*unfolded protein response*) [21].

Impliquées dans l'immunité des animaux et des plantes, les voies mettant en jeu les MAPK (*mitogen-activated protein kinase*) sont considérées comme les plus anciennes cascades de transduction du signal. Chez *C. elegans*, un crible génétique à partir de mutants hypersensibles à l'infection par *P. aeruginosa* a révélé un rôle pour la voie de la p38 MAPK dans la défense antimicrobienne [22]. Depuis, il a été montré que cette voie était impliquée dans la protection contre d'autres bactéries à Gram négatif et positif et semble être l'une des principales cascades de signalisation intervenant dans la réponse immunitaire innée [23]. Une autre voie MAPK, la voie ERK (*extracellular signal-regulated kinase*) est impliquée dans la résistance à l'infection par la bactérie à Gram positif *M. nematophilum* [24]. Enfin, la MAPK MEK-1 de la voie JNK (*c-Jun N-terminal kinase*) est nécessaire à l'activation complète de la p38, révélant une interaction entre les différentes voies MAPK [25].

Plusieurs études transcriptionnelles ont été réalisées comparant des vers infectés par diverses bactéries. La réponse du ver à une infection par *S. marcescens* a permis de mettre en évidence l'induction de plusieurs molécules effectrices telles que des lectines et certains lysozymes, la voie du TGF- β (*transforming growth factor*- β) étant nécessaire à cette induction [26]. La voie de l'insuline impliquant le récepteur DAF-2 et

Reconnaissance des pathogènes

Les récepteurs dédiés à la reconnaissance des pathogènes sont appelés des PRR pour *pattern recognition receptor*. Les gènes codant pour des familles principales de PRR comme PGRP (*peptidoglycan recognition proteins*) ou GNBP (*Gram-negative binding proteins*) chez la drosophile ou NOD (*nucleotide-binding oligomerization domain*) et les protéines à domaine NACHT chez les mammifères [9] sont absents du génome de *C. elegans*. Le seul TLR présent chez le ver ne semble pas directement impliqué dans la résistance aux infections [4]. Chez les mammifères, certaines lectines de type C comme la Dectine-1 ont été impliquées dans la reconnaissance de β -glucan exprimé dans la paroi des champignons [9]. Il y a 278 gènes codant des lectines de type C chez le nématode, dont l'expression de certaines est modifiée lors d'infections par différentes bactéries [10].

La façon dont le nématode perçoit l'infection reste à découvrir, mais il est clair que selon la nature de l'infection, *C. elegans* développe une réaction de défense ciblée [11-13]. Une étude récente faite en parallèle chez le nématode et la souris propose une liaison directe des récepteurs *scavenger* (poubelle), CED-1/SCARF1 (*C. elegans*) et CO3F11.3/CD36 (souris) aux β -glucanes de la paroi des levures *Candida albicans* et *neoformans* [14, 46] (→). Par ailleurs, un mutant du gène *fshr-1* codant un GPCR à motif

(→) Voir l'article de Daniel Poulain et al., p. 473 de ce numéro

LRR apparaît plus sensible à l'infection par les bactéries à Gram positif et négatif, et exprime plus faiblement plusieurs gènes effecteurs de la réponse immunitaire. Les auteurs proposent l'hypothèse selon laquelle le récepteur FSHR-1 (un analogue du *mammalian follicle stimulating hormone receptor*) pourrait soit agir comme un récepteur hormonal aidant la réponse immunitaire, soit servir directement de PRR [15].

La perception de l'infection se fera probablement *via* la reconnaissance directe des pathogènes ou de leurs facteurs de virulence, mais aussi des dommages cellulaires et du stress causés par les pathogènes [11, 16], selon la théorie du danger [17], comme cela a été montré

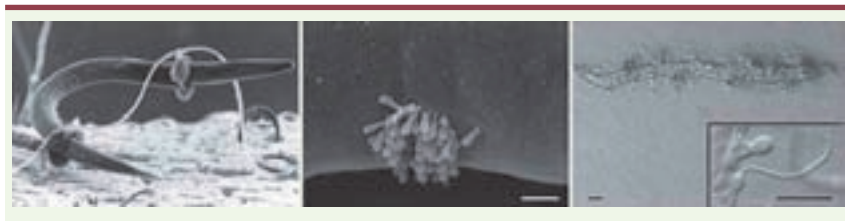


Figure 2. Illustration de divers types d'attaque de champignon nématophage. *Drechslerella anchonia* à gauche (Pr. G. Barron, University of Delph, Canada), *Drechmeria coniospora* au centre (Jürgen Berger, MPI for Developmental Biology, Tübingen, Germany), *Harposporium anguillulae*. Échelle : 10 μ m.

le facteur de transcription de type FOXO DAF-16 (un membre de la famille *forkhead transcription factor*) sont impliqués dans beaucoup de processus biologiques chez le nématode, notamment la longévité. Garsin *et al.* ont montré que les mutants *daf-2* sont résistants à l'infection par *E. faecalis*, *S. aureus* et *P. aeruginosa* [27]. Mais des études récentes comparant des profils d'expression de gènes, sous le contrôle de *daf-16* d'une part, et après infection par diverses bactéries d'autre part, révèlent peu de gènes communs, suggérant que *daf-16* régulerait l'expression de gènes impliqués dans la défense constitutive du nématode contre les pathogènes [16, 23]. Enfin, la voie de la mort cellulaire programmée (PCD) semble protéger *C. elegans* contre l'infection par *S. typhimurium* [28].

Une absence remarquée : celle de NF- κ B

Chez les insectes et les vertébrés, le facteur de transcription NF- κ B représente le lien principal entre la réception et la transmission du signal d'infection et l'activation des effecteurs. Son absence chez le ver est étonnante mais ouvre une fenêtre d'investigation sur d'autres mécanismes de transcription potentiellement conservés chez les autres espèces. Une grande partie des effecteurs induits dans l'intestin en réponse à *P. aeruginosa* est sous le contrôle du facteur de transcription de type GATA ELT-2 [29]. Le groupe d'Aballay a montré qu'une élévation de température augmentait la résistance du ver en activant le facteur de transcription HSF-1 (*heat shock factor*) [30]. Récemment, le cofacteur de transcription BAR-1/ β -caténine a été démontré comme étant nécessaire à la résistance contre *S. aureus* [31].

Modulation par le système nerveux

Deux articles récents fournissent la preuve d'une interaction chez *C. elegans* entre le système nerveux et le système immunitaire. Kawli et Tan ont démontré que la sécrétion des DCV (*dense core vesicles*) par les neurones régule négativement la réponse immunitaire intestinale contre *P. aeruginosa* et que ce mécanisme de contrôle neuronal est

transmis par la voie de l'insuline dans l'intestin [32]. Styer et ses collègues ont montré par ailleurs que NPR-1, un GPCR apparenté au récepteur du neuropeptide Y chez les mammifères, régule négativement la réponse à *P. aeruginosa*, probablement en agissant en amont de la voie de p38 MAPK [33]. Mais cette étude est controversée, une autre équipe ayant attribué la réduction de la susceptibilité dans la souche mutante *npr-1* à un phénomène mécanique. Les mutants *npr-1* passent en effet plus de temps en groupe et seraient plus en contact avec les bactéries pathogènes [34].

La réponse antifongique chez *C. elegans*

La plupart des pathogènes bactériens décrits précédemment infectent le ver en envahissant la lumière de l'intestin dont la fonction naturelle est la digestion des bactéries. Il est de ce fait difficile de séparer digestion et réponse immunitaire de l'hôte. Notre équipe étudie surtout un autre type de pathogène qui attaque le ver par l'extérieur à travers sa cuticule.

Le champignon *Drechmeria coniospora* infecte le nématode à travers l'épiderme

Le champignon *D. coniospora* est un parasite nématophage strict. Il produit des spores en forme de petites quilles. La base renflée appelée bouton adhésif s'attache sur la cuticule du ver, notamment au niveau des interfaces entre l'organisme et le milieu environnant comme la bouche, la vulve et l'anus (Figure 2). Des enzymes sécrétées par le champignon vont permettre de percer la cuticule et d'envoyer des hyphes qui vont croître dans l'épiderme et envahir tout le ver [35]. L'infection est rapide, le nématode peut être tué en 48 heures (Figure 3).

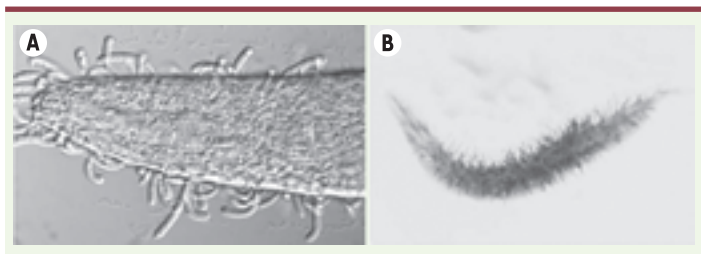


Figure 3. Infection de *C. elegans* par *D. coniospora*. Après 48 heures d'infection, les hyphes ont envahi le ver et commencent à sortir du nématode (A), le ver n'est plus qu'un cadavre poilu (B), les hyphes commencent à germer en conidia qui seront dispersées prêtes à établir une nouvelle infection.

Réponse transcriptionnelle

de *C. elegans* à l'infection fongique

Une étude d'expression différentielle par puces à ADN a montré que, en réponse à une infection par *D. coniospora*, le nématode induit l'expression de plusieurs gènes codant une famille de peptides riches en glycine et tyrosine appelée NLP, pour *neuropeptide-like protein* et CNC pour *caenacins*. Des études d'expression à l'aide de gènes rapporteurs comme la GFP (*green fluorescent protein*) ou la DsRed ont montré que la majorité de ces gènes étaient induits après l'infection et exprimés dans l'épiderme du ver, site de l'attaque du champignon (Figure 4) [13, 36].

Amplification et sélection positive des gènes *nlp* et *cnc*

La majeure partie des gènes *nlp* et *cnc* induits après infection est positionnée dans le génome en deux groupes distincts, appelés groupe *nlp-29* et *cnc-2*, sur le chromosome V. L'identification de groupes synténiques dans deux espèces de nématodes, *C. briggsae* et *C. remanei*, montre que lors de la divergence entre les espèces, il y avait probablement deux gènes dans le groupe *nlp-29* et que l'un d'eux, *nlp-27*, a subi une expansion chez *C. elegans*, l'autre, *nlp-34*, chez *C. briggsae*. Des études d'adaptations évolutives basées sur le taux de remplacement de bases provoquant des mutations *versus* des remplacements silencieux, faites en collaboration avec H. Schulenberg (Kiel, Allemagne), suggèrent en effet une évolution adaptative positive du groupe *nlp-29* [13] (Figure 5). La théorie contemporaine sur l'évolution des gènes de l'immunité innée propose que l'hôte et son pathogène partageant le même habitat

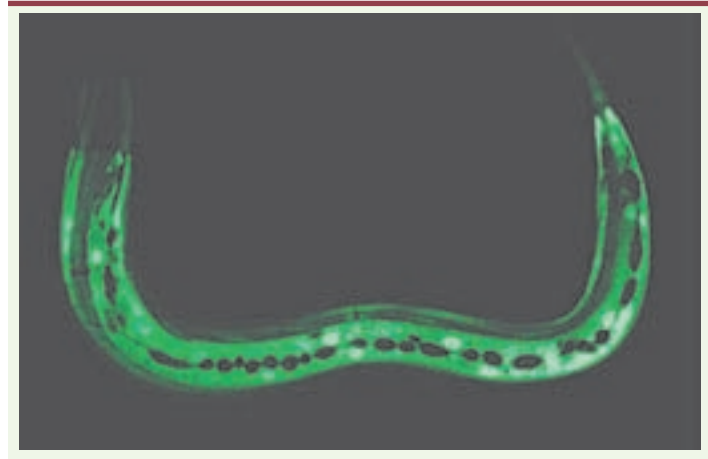


Figure 4. Expression du gène *nlp-31*. Image en microscopie confocale d'une jeune larve exprimant la GFP (*green fluorescent protein*) dans l'épiderme sous le contrôle du promoteur du gène *nlp-31*.

fassent la « course » pour essayer d'échapper aux innovations de l'autre [37]. Une amplification par duplication en tandem et une diversification de gènes apparaissent comme les premières armes pour faire face aux stratégies échappatoires des pathogènes.

Les peptides des groupes *nlp-29* et *cnc-2* ont des propriétés antimicrobiennes

Un des peptides du groupe *nlp-29*, NLP-31, a été synthétisé et son activité antifongique a été démontrée *in vitro*. De plus, lorsque des vers infectés par *D. coniospora* sont incubés avec ce peptide, celui-ci est capable d'arrêter la sporulation du champignon [36]. Enfin, des vers transgéniques surexprimant des peptides du groupe entier *nlp-29* ou *cnc-2* sont plus résistants à l'infection fongique [13, 38], ce qui confirme une activité antimicrobienne *in vivo*. Nous désignerons ces peptides sous le nom de peptides antimicrobiens (AMP).

Une blessure de l'épiderme induit l'expression des gènes AMP

Comme l'infection par le champignon implique l'ouverture d'une brèche dans la cuticule et l'épiderme du ver, nous avons testé la possibilité qu'une piqûre stérile puisse provoquer l'induction de l'expression des gènes AMP. En réponse à une simple piqûre avec une aiguille fine ou en utilisant un faisceau laser au niveau de l'épiderme, certains gènes AMP sont rapidement induits ; c'est le cas de la majorité des gènes du groupe *nlp-29* et de certains gènes du groupe *cnc-2*. Par ailleurs, une expression constitutive forte de ces gènes est observée dans certains mutants présentant des défauts développementaux de l'épiderme. Cette expression pourrait protéger le nématode contre d'éventuelles

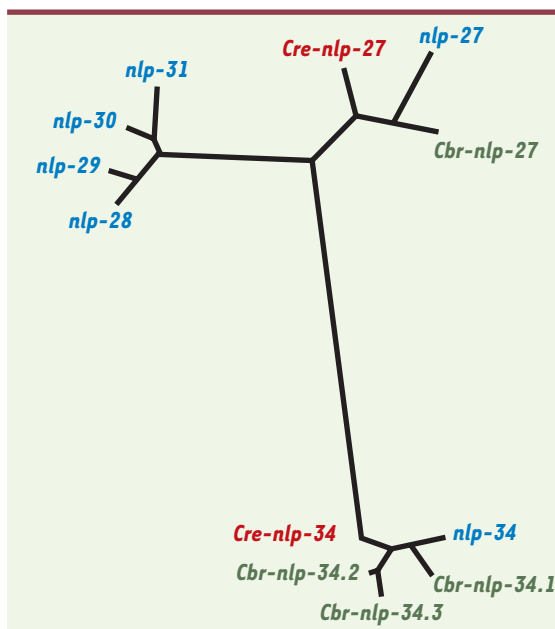


Figure 5. Arbre phylogénétique des gènes du locus *nlp*. Chez *C. elegans* (bleu), *C. briggsae* (vert) et *C. remanei* (rouge). *C. remanei* représente probablement la situation ancestrale avec deux gènes *nlp-27* et *nlp-34*, alors qu'une amplification de *nlp-27* s'est produite chez *C. elegans* et de *nlp-34* chez *C. briggsae* [13].

attaques à travers un épiderme fragilisé [13, 39, 40]. Il en est certainement de même dans la peau des mammifères où une piqûre stérile provoque l'induction d'AMP [41].

La voie de la p38 MAPK contrôle l'expression des gènes AMP du groupe *nlp-29* dans l'épiderme

Les molécules à domaine TIR (*Toll-interleukin 1 receptor*) étant connues pour leur implication dans l'immunité innée [42], nous avons testé le rôle des deux protéines contenant un tel domaine : le récepteur TLR TOL-1 et la molécule cytoplasmique TIR-1, homologue de SARM chez les mammifères. Si l'induction des gènes AMP est indépendante de TOL-1, TIR-1 régule uniquement le groupe de gènes *nlp-29*. Des vers transgéniques surexprimant le gène *sek-1* (p38 MAPKK) spécifiquement dans l'épiderme sont capables de sauver les mutants *sek-1* mais aussi *tir-1* et *nsy-1* (p38 MAPKKK). Cela montre que *tir-1* agit en amont de la voie de la p38/MAPK, comme lors de l'infection par le pathogène intestinal *P. aeruginosa* [43], et que cette voie agit de façon intrinsèque à la cellule. L'induction de ces gènes par la piqûre est aussi régulée par la même voie [39].

Une kinase de type Tribbles est spécifiquement requise pour la réponse à l'infection

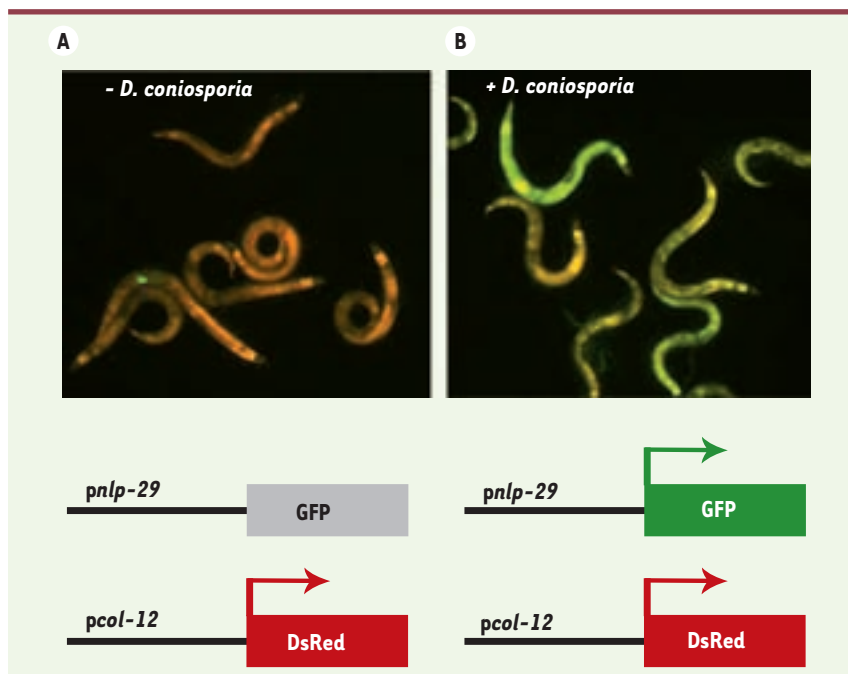
Une approche non biaisée par crible génétique a permis d'identifier plusieurs gènes responsables de l'induction des peptides en isolant des mutations récessives produites au hasard lors d'une mutagenèse par un agent chimique, mutations qui bloquent l'induction du peptide *nlp-29* en réponse à l'infection (Figure 6). L'un de ces mutants, *nipi-3*, est particulièrement intéressant car il bloque la réponse à l'infection mais pas à la piqûre. Des études épistatiques ont montré que *nipi-3* agissait en amont de la voie TIR-1/p38 dans l'épiderme. *nipi-3* code une kinase homologue à Tribbles qui, chez les mammifères, agit aussi en amont de la voie de la p38 [44]. Ces données renforcent encore la

réalité d'une conservation des molécules et des voies de signalisation intervenant chez le nématode et les mammifères et révèlent que les deux processus d'induction des peptides après piqûre et après infection sont contrôlés séparément au niveau génétique [39].

La protéine kinase C fait le lien entre la signalisation des protéines G et la voie de la p38 MAPK

Lors du même crible génétique, l'identification de deux allèles du gène *tpa-1* codant la protéine kinase C (PKC δ) a permis de révéler une cascade de signalisation, passant par la protéine G α (GPA-12) et les phospholipases (EGL-8 et PLC-3), en amont de la PKC δ (TPA-1) dans la régulation de l'expression du gène *nlp-29* en réponse à une piqûre ou une infection. Les GPCR qui réguleraient cette voie n'ont pas été identifiés, il y en a plus de 1 200 chez le ver. Les deux GPCR récemment impliqués dans l'infection bactérienne, FSHR-1 et NPR-1, sont des candidats à tester dans le futur.

Des études épistatiques suggèrent que l'activation par les protéines G agit en amont de la voie de la p38 et que NIPI-3 relaierait le signal spécifique de l'infection qui converge avec le signal de la piqûre sur la cascade PKC-TIR-1-p38 MAPK (Figure 7) [45]. Ces résultats sont cohérents avec l'idée que les GPCR représentent un mécanisme ancien et conservé de reconnaissance du stress cellulaire, en détectant par exemple les activités anormales de protéases, mécanisme probablement remodelé pour contribuer à la défense contre les infections [18].



L'action paracrine du TGF- β contrôle l'expression des gènes AMP du groupe *cnc-2* dans l'épiderme

La régulation du groupe des gènes *cnc-2* apparaît tout autre. La sécrétion du ligand TGF- β par les neurones est en effet nécessaire à l'activation de la transcription des gènes du groupe *cnc-2* dans l'épiderme en réponse à l'infection.

Figure 6. Illustration de l'induction des gènes *nlp-29* après infection. Une souche transgénique, contenant un promoteur contrôlant la DsRed exprimé de façon constitutive dans l'épiderme et le promoteur inducible du gène *nlp-29* contrôlant la GFP, est rouge en l'absence d'infection (gauche) et devient verte après 12 heures d'infection par *D. coniosporia* (droite).

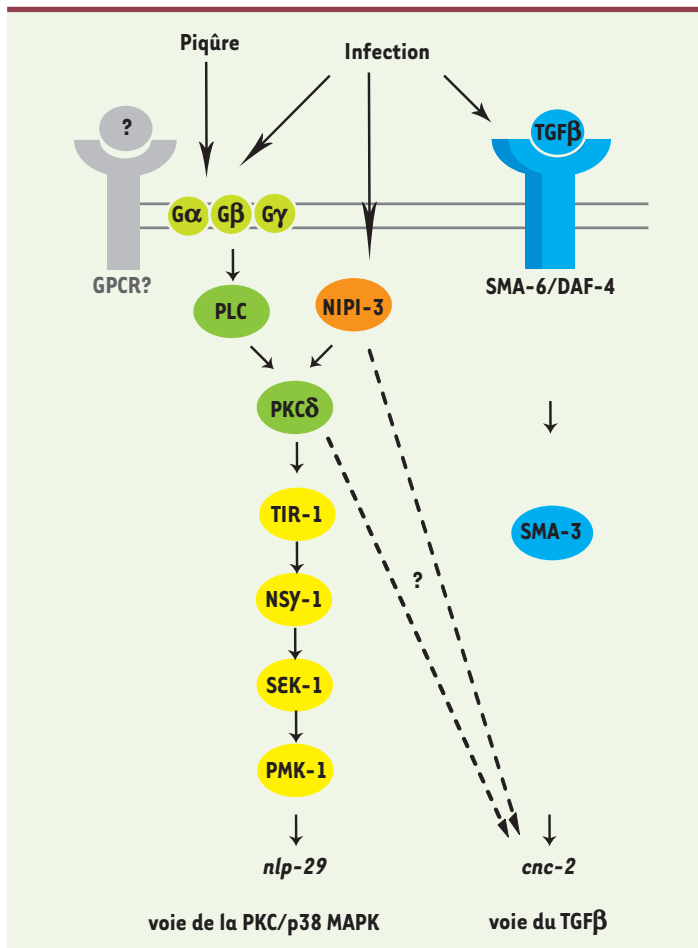


Figure 7. Schéma de l'activation des différentes voies produisant l'expression des peptides antimicrobiens des groupes *nlp* et *cnc*.

SUMMARY

C. elegans defence mechanisms

The nematode *Caenorhabditis elegans* has evolved as a powerful invertebrate model to study innate immunity to pathogens. *C. elegans* possesses inducible defence mechanisms to protect itself from pathogenic attack, mainly by the production of antimicrobial effector molecules. Its innate immune system is under the control of a surprisingly complex network of evolutionary conserved signalling pathways, which are activated depending on the pathogen, suggesting that *C. elegans* is able to mount a specific defence response to different pathogens. In this review we will introduce the worm's immune system and discuss the different signalling pathways that regulate its response to bacterial pathogens which mainly infect *C. elegans* by an oral route and by invading its intestine, before focusing our attention on the resistance of *C. elegans* to a natural occurring fungal pathogen that infects the worm by invading its epidermis.

RÉFÉRENCES

1. Barrière A, Félix MA. Isolation of *C. elegans* and related nematodes. In : *WormBook*. The *C. elegans* Research Community ed. <http://www.wormbook.org/>
2. Hodgkin J, Kuwabara PE, Corneliussen B. A novel bacterial pathogen, *Microbacterium nematophilum*, induces morphological change in the nematode *C. elegans*. *Curr Biol* 2000 ; 10 : 1615-8.
3. Troemel ER, Felix MA, Whiteman NK, Barrière A, Ausubel FM. Microsporidia are natural intracellular parasites of the nematode *Caenorhabditis elegans*. *PLoS Biol* 2008 ; 6 : 2736-52.
4. Pujol N, Link EM, Liu, LX, et al. A reverse genetic analysis of components of the Toll signalling pathway in *Caenorhabditis elegans*. *Curr Biol* 2001 ; 11 : 809-21.
5. Pradel E, Zhang Y, Pujol N, et al. Detection and avoidance of a natural product from the pathogenic bacterium *Serratia marcescens* by *Caenorhabditis elegans*. *Proc Natl Acad Sci USA* 2007 ; 104 : 2295-300.
6. Kurz CL, Chauvet S, Andres E, et al. Virulence factors of the human opportunistic pathogen *Serratia marcescens* identified by *in vivo* screening. *EMBO J* 2003 ; 22 : 1451-60.
7. Tenor JL, Aballay A. A conserved Toll-like receptor is required for *Caenorhabditis elegans* innate immunity. *EMBO Rep* 9 2008 ; 9 : 103-9.
8. Fares H, Greenwald I. Genetic analysis of endocytosis in *Caenorhabditis elegans*: coelomocyte uptake defective mutants. *Genetics* 2001 ; 159 : 133-45.
9. Palm NW, Medzhitov R. Pattern recognition receptors and control of adaptive immunity. *Immunol Rev* 2009 ; 227 : 221-33.
10. Schulenburg H, Hoepfner MP, Weiner J, 3rd, Bornberg-Bauer E. Specificity of the innate immune system and diversity of C-type lectin domain (CTLD) proteins in the nematode *Caenorhabditis elegans*. *Immunobiology* 2008 ; 213 : 237-50.
11. Wong D, Bazopoulou D, Pujol N, Tavernarakis N, Ewbank JJ. Genome-wide investigation reveals pathogen-specific and shared signatures in the response of *C. elegans* to infection. *Genome Biol* 2007 ; 8 : R194.
12. O'Rourke D, Baban D, Demidova M, Mott R, Hodgkin J. Genomic clusters, putative pathogen recognition molecules, and antimicrobial genes are induced by infection of *C. elegans* with *M. nematophilum*. *Genome Res* 2006 ; 16 : 1005-16.
13. Pujol N, Zugasti O, Wong D, et al. Anti-fungal innate immunity in *C. elegans* is enhanced by evolutionary diversification of antimicrobial peptides. *PLoS Pathog* 2008 ; 4 : e1000105.
14. Means TK, Mylonakis E, Tampakakis E, et al. Evolutionarily conserved recognition and innate immunity to fungal pathogens by the scavenger receptors SCARF1 and CD36. *J Exp Med* 2009 ; 206 : 637-53.

Ce signal paracrine est lu par le récepteur hétérodimérique SMA-6/DAF-4 au niveau de l'épiderme et est transmis par la protéine SMAD SMA-3 (Figure 7) [38]. Une partie seulement de la voie de signalisation canonique du TGF-β étant utilisée, il sera intéressant de chercher à identifier les nouveaux partenaires permettant la transcription du groupe *cnc-2* et d'analyser l'implication de ces nouveaux partenaires chez les mammifères.

Conclusion

C. elegans possède des mécanismes de défense inductibles, régulés par une surprenante diversité de voies de signalisation. L'implication des GPCR dans la reconnaissance directe des pathogènes reste à démontrer. Les données récentes sur l'implication du système nerveux dans la réponse immunitaire du nématode vont permettre de mieux comprendre la communication entre les différents tissus et de voir comment l'immunité est intégrée dans la physiologie de l'organisme.



15. Powell JR, Kim DH, Ausubel FM. The G protein-coupled receptor FSHR-1 is required for the *Caenorhabditis elegans* innate immune response. *Proc Natl Acad Sci USA* 2009 ; 106 : 2782-7.
16. Shivers RP, Youngman MJ, Kim DH. Transcriptional responses to pathogens in *Caenorhabditis elegans*. *Curr Opin Microbiol* 2008 ; 11 : 251-6.
17. Matzinger P. The danger model: a renewed sense of self. *Science* 2002 ; 296 : 301-5.
18. Chamy LE, Leclerc V, Caldelari I, Reichhart JM. Sensing of « danger signals » and pathogen-associated molecular patterns defines binary signaling pathways « upstream » of Toll. *Nat Immunol* 2008 ; 9 : 1165-70.
19. Shpacovitch V, Feld M, Bunnett NW, Steinhoff M. Protease-activated receptors: novel Partners in innate immunity. *Trends Immunol* 2007 ; 28 : 541-50.
20. Chavez V, Mohri-Shiomi A, Maadani A, Vega LA, Garsin DA. Oxidative stress enzymes are required for DAF-16-mediated immunity due to generation of reactive oxygen species by *Caenorhabditis elegans*. *Genetics* 2007 ; 176 : 1567-77.
21. Haskins KA, Russell JF, Gaddis N, Dressman HK, Aballay A. Unfolded protein response genes regulated by CED-1 are required for *Caenorhabditis elegans* innate immunity. *Dev Cell* 2008 ; 15 : 87-97.
22. Kim DH, Feinbaum R, Alloing G, et al. A conserved p38 MAP kinase pathway in *Caenorhabditis elegans* innate immunity. *Science* 2002 ; 297 : 623-6.
23. Troemel ER, Chu SW, Reinke V, et al. p38 MAPK Regulates Expression of Immune Response Genes and Contributes to Longevity in *C. elegans*. *PLoS Genetics* 2006 ; 2 : e183.
24. Nicholas HR, Hodgkin J. The ERK MAP kinase cascade mediates tail swelling and a protective response to rectal infection in *C. elegans*. *Curr Biol* 2004 ; 14 : 1256-61.
25. Kim DH, Liberati NT, Mizuno T, et al. Integration of *Caenorhabditis elegans* MAPK pathways mediating immunity and stress resistance by MEK-1 MAPK kinase and VHP-1 MAPK phosphatase. *Proc Natl Acad Sci USA* 2004 ; 101 : 10990-4.
26. Mallo GV, Kurz CL, Couillault C, et al. Inducible antibacterial defense system in *C. elegans*. *Curr Biol* 2002 ; 12 : 1209-14.
27. Garsin DA, Villanueva JM, Begun J, et al. Long-lived *C. elegans daf-2* mutants are resistant to bacterial pathogens. *Science* 2003 ; 300 : 1921.
28. Aballay A, Ausubel FM. Programmed cell death mediated by *ced-3* and *ced-4* protects *Caenorhabditis elegans* from *Salmonella typhimurium*-mediated killing. *Proc Natl Acad Sci USA* 2001 ; 98 : 2735-9.
29. Shapira M, Hamlin BJ, Rong J, et al. A conserved role for a GATA transcription factor in regulating epithelial innate immune responses. *Proc Natl Acad Sci USA* 2006 ; 103 : 14086-91.
30. Singh V, Aballay A. Heat-shock transcription factor (HSF)-1 pathway required for *Caenorhabditis elegans* immunity. *Proc Natl Acad Sci USA* 2006 ; 103 : 13092-7.
31. Irazoqui JE, Ng A, Xavier RJ, Ausubel FM. Role for beta-catenin and HOX transcription factors in *Caenorhabditis elegans* and mammalian host epithelial-pathogen interactions. *Proc Natl Acad Sci USA* 2008 ; 105 : 17469-74.
32. Kawli T, Tan MW. Neuroendocrine signals modulate the innate immunity of *Caenorhabditis elegans* through insulin signaling. *Nat Immunol* 2008 ; 9 : 1415-24.
33. Styer KL, Singh V, Macosko E, et al. Innate Immunity in *Caenorhabditis elegans* Is Regulated by Neurons Expressing NPR-1/GPCR. *Science* 2008 ; 322 (5900) : 460-4.
34. Reddy KC, Andersen EC, Kruglyak L, Kim DH. A polymorphism in *npr-1* is a behavioral determinant of pathogen susceptibility in *C. elegans*. *Science* 2009 ; 323 : 382-4.
35. Dijksterhuis J, Veenhuis M, Harder W. Ultrastructural study of adhesion and initial stages of infection of the nematode by conidia of *Drechmeria coniospora*. *Mycological research* 1990 ; 94 : 1-8.
36. Couillault C, Pujol N, Reboul J, et al. TLR-independent control of innate immunity in *Caenorhabditis elegans* by the TIR domain adaptor protein TIR-1, an ortholog of human SARM. *Nat Immunol* 2004 ; 5 : 488-94.
37. Ebert D. Host-parasite coevolution: Insights from the *Daphnia*-parasite model system. *Curr Opin Microbiol* 2008 ; 11 : 290-301.
38. Zugasti O, Ewbank JJ. Neuroimmune regulation of antimicrobial peptide expression by a noncanonical TGF-beta signaling pathway in *Caenorhabditis elegans* epidermis. *Nat Immunol* 2009 ; 10 : 249-56.
39. Pujol N, Cypowyj S, Ziegler K, et al. Distinct innate immune responses to infection and wounding in the *C. elegans* epidermis. *Curr Biol* 2008 ; 18 : 481-9.
40. Tong A, Lynn G, Ngo V, et al. Negative regulation of *Caenorhabditis elegans* epidermal damage responses by death-associated protein kinase. *Proc Natl Acad Sci USA* 2009 ; 106 : 1457-61.
41. Sorensen OE, Thapa DR, Roupe KM, et al. Injury-induced innate immune response in human skin mediated by transactivation of the epidermal growth factor receptor. *J Clin Invest* 2006 ; 116 : 1878-85.
42. O'Neill LA, Fitzgerald KA, Bowie AG. The Toll-IL-1 receptor adaptor family grows to five members. *Trends Immunol* 2003 ; 24 : 286-290.
43. Liberati NT, Fitzgerald KA, Kim DH, et al. Requirement for a conserved Toll/interleukin-1 resistance domain protein in the *Caenorhabditis elegans* immune response. *Proc Natl Acad Sci USA* 2004 ; 101 : 6593-8.
44. Kiss-Toth E, Bagstaff SM, Sung HY, et al. Human tribbles, a protein family controlling mitogen-activated protein kinase cascades. *J Biol Chem* ; 279 : 42703-8.
45. Ziegler K, Kurz CL, Cypowyj S, et al. Antifungal innate immunity in *C. elegans*: PKC δ links G-protein signaling and a conserved p38 MAPK cascade. *Cell Host and Microbes* 2009 (sous presse).
46. Sendid B, Jouault T, Vitse A, et al. Glycannes pariétaux de levures et anticorps spécifiques : biomarqueurs et outils d'analyse physiopathologique des candidoses et de la maladie de Crohn. *Med Sci (Paris)* 2009 ; 25 : 473-81.

TIRÉS À PART

N. Pujol





Tarifs d'abonnement M/S - 2009

Abonnez-vous

à Médecine/Sciences

> Grâce à m/s, vous vivez en direct les progrès des sciences biologiques et médicales

Bulletin d'abonnement page 542 dans ce numéro de m/s



Ateliers de formation 2009

Renseignements et inscriptions :
Ateliers de formation Inserm
101, rue de Tolbiac
75654 Paris Cedex 13
Tél. : 33 (0)1 44 23 62 04 — Fax : 33 (0)1 44 23 62 93
ateliers@inserm.fr



Inserm

Institut national
de la santé et de la recherche médicale

■ Atelier de formation n° 200

Organisation fonctionnelle du génome dans le noyau : des techniques moléculaires aux approches *in vivo*

Organisateurs : Frédéric Bantignies (IGH, Montpellier), Angela Taddei (Institut Curie, Paris)

Phase I • Le point sur...

19-21 octobre 2009 • Saint-Raphaël

Objectifs • Les chromosomes sont organisés en trois dimensions dans l'espace nucléaire des cellules eucaryotes et cette organisation contribue à la régulation des différentes fonctions du génome. Cette organisation spécifique met en jeu des interactions multiples entre les éléments géniques, des sub-structures nucléaires et des protéines régulatrices, ainsi que des contacts à longue distance entre différentes régions génomiques. Des travaux récents ont montré l'importance de ces interactions pour coordonner l'expression de certains gènes. En outre, l'organisation tridimensionnelle du génome peut également influencer d'autres processus nucléaires fondamentaux comme la réplication, la réparation des dommages de l'ADN ou la recombinaison, et avoir des implications sur des réarrangements chromosomiques, qui sont observés dans de nombreux cancers. Il est donc fondamental de caractériser cette organisation afin de pouvoir en étudier les conséquences fonctionnelles.

Les objectifs de cet atelier seront de couvrir les techniques majeures et innovantes qui permettent actuellement d'appréhender l'organisation des génomes au sein des noyaux cellulaires. Trois types de méthodes complémentaires seront discutés : i) des approches moléculaires avec les techniques très récentes de « 3C » (Capturing Chromosome Conformation) et ses dérivés (« 4C », « 5C », « ChIP-loop assay »), qui permettent d'identifier les interactions géniques à haute résolution et à large échelle ; ii) les approches cyto- logiques avec les dernières avancées de l'ADN et de l'ARN FISH, pour visualiser ces interactions sur tissus fixés ; iii) des approches *in vivo* avec les techniques de « gene tagging » et « mRNA tagging », qui permettent d'aborder la dynamique de ces interactions.

Public • Chercheurs, ingénieurs, post-doctorants et doctorants travaillant sur la régulation génique et l'organisation tridimensionnelle des génomes eucaryotes. Cet atelier est également ouvert à des chercheurs, médecins et pharmaciens travaillant sur des thèmes de recherche plus appliqués.

Les conférences seront données en anglais.

Nombre maximum de participants : 80

Programme • 1. Les aspects moléculaires de l'organisation nucléaire des génomes : « 3C » et ses dérivés (« 4C », « 5C », « ChIP-loop assay »), « DamID ».

2. Les aspects cytologiques : ADN-FISH et ARN-FISH et les nouvelles améliorations de ces techniques comme l'Immuno/FISH, l'ADN/ARN FISH et le TISH (Triple Helix FISH).

3. Les aspects dynamiques : « gene tagging » et « mRNA tagging », techniques qui permettent l'observation des gènes ou de leurs transcrits dans les cellules vivantes.

Phase II • Maîtrise technique

Automne 2009 • Paris, Montpellier

Programme • Plusieurs stages concernant les divers approches de l'organisation nucléaire seront proposés :

- deux stages traitant des techniques moléculaires du 3C et du 4C, et leur analyse (Montpellier et Rotterdam, à confirmer) ;
- un stage traitant des techniques cytologiques de l'Immuno-DNA FISH et de l'Immuno-RNA FISH, et leurs analyses dans les cellules fixées (Montpellier) ;
- un stage traitant du marquage fluorescent des gènes et des ARNs et leurs observations dans des cellules vivantes (Paris).

Sélection • 12 à 16 participants sélectionnés parmi les participants de la phase I.

Avec la participation de • Geneviève Almouzni (Paris, France), Giacomo Cavalli (Montpellier, France), Xavier Darzacq (Paris, France), Job Dekker (Worcester, USA), Wouter de Laat (Rotterdam, The Netherlands), Christophe Escudé (Paris, France), Thierry Forné (Montpellier, France), Susan Gasser (Basel, Switzerland), Edith Heard (Paris, France), Terumi Kohwi-Shigematsu (Berkeley, USA), Rolf Ohlson (Uppsala, Sweden), Yijun Ruan (Singapore, Singapore), Remi Terranova (Basel, Switzerland), Bas Tolhuis (Amsterdam, the Netherlands), Bas van Steensel (Amsterdam, the Netherlands)

Date limite d'inscription : 10 juillet 2009