



HAL
open science

Viral sensing by RNA helicases

Claire Rousseau, Carine Meignin

► **To cite this version:**

Claire Rousseau, Carine Meignin. Viral sensing by RNA helicases. *Virologie*, 2020, 24 (6), pp.419-436.
10.1684/vir.2020.0871 . hal-03177163

HAL Id: hal-03177163

<https://hal.science/hal-03177163v1>

Submitted on 24 Nov 2022

HAL is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.

Viral sensing by RNA helicases

La détection virale par les hélicases ARN

Claire Rousseau¹ and Carine Meignin^{1*}

¹Université de Strasbourg, CNRS UPR9022, Institut de Biologie Moléculaire et Cellulaire, Strasbourg, France

*Correspondance : c.meignin@unistra.fr

Abstract

A key aspect of antiviral immunity is the distinction between “self” and “non-self” components. This distinction can be established through the detection of double-stranded RNA (dsRNA), a common sign of viral infection, by cytosolic RNA helicases. Depending on the organism, two major antiviral pathways can be induced by dsRNA helicases: RNA interference (RNAi) and interferon (IFN) signaling. In the RNAi pathway, dsRNAs are recognized by a Dicer protein, and are then used for the sequence-dependent recognition and subsequent degradation of the complementary viral RNAs. In the IFN signaling pathway, dsRNAs are recognized by a RIG-like receptor (RLR), which induces a signaling cascade in order to induce the expression of IFNs, cytokines and chemokines. In this review, we discuss the RNA features that can be used by the cell to detect a viral infection, the two aforementioned types of helicase-mediated sensing, as well as some viral escape mechanisms developed to avoid recognition.

Key words: dsRNA, nucleic acid sensing, cytosolic receptors, antiviral immunity, helicases

Résumé français

Un élément clé de l'immunité antivirale est la distinction entre les éléments du “soi” et du “non-soi”. Cette distinction peut être effectuée à travers la détection d'ARN double-brin (ARNdb), un signe courant d'infection virale, notamment par des hélicases ARN cytosoliques. Selon l'organisme, deux voies antivirales majeures peuvent être induites par des hélicases ARN : la voie de l'ARN interférence et celle des interférons (IFN). Dans la voie de l'ARN interférence, les ARNdb sont détectés par une protéine Dicer, puis guident la reconnaissance séquence-dépendante et la dégradation subséquente de l'ARN viral complémentaire. Dans la voie de signalisation IFN, les ARNdb sont reconnus par un récepteur RIG-like (RLR), conduisant à l'expression d'IFNs, de cytokines et de chimiokines. Dans cette revue, nous abordons les caractéristiques des ARN qui peuvent être utilisées par la cellule afin de détecter une infection virale, les deux types de reconnaissance par des hélicases mentionnées plus haut, ainsi que certains mécanismes d'échappement qui permettent aux virus d'éviter la détection.

Mots-clés : ARNdb, reconnaissance des acides nucléiques, récepteurs cytosoliques, immunité antivirale, hélicases

Introduction

Les virus sont des pathogènes intracellulaires obligatoires qui détournent la machinerie cellulaire et l'utilisent afin d'accomplir leur cycle viral. Comme les composants du virus et de

l'hôte co-existent dans la même cellule, il est crucial que l'hôte puisse les différencier. À cette fin, les organismes utilisent des mécanismes de surveillance cellulaire pour permettre la distinction entre le "soi" et le "non-soi" en développant des stratégies visant à reconnaître les composants viraux et les cibler. En outre, malgré la grande diversité des types de génomes et des stratégies de réplication des virus, la quasi-totalité exposent leurs acides nucléiques (AN) au système immunitaire à un moment donné de leur cycle de réplication. En effet, bien que la plupart des virus "masquent" leurs ARN en utilisant différentes stratégies empêchant leur détection, tous les virus doivent transporter des ARNm vers les ribosomes afin d'assurer leur traduction. Il n'est donc pas surprenant que la détection des acides nucléiques soit devenue un élément majeur de la reconnaissance des virus [1].

La détection d'un type d'acide nucléique en particulier, l'ARN double brin (ARNdb), permet la détection d'un large éventail de virus. En effet, contrairement aux autres, ce type d'acide nucléique est, au moins temporairement, présent dans la grande majorité des virus lors de leur réplication. Outre l'exemple évident des virus à ARNdb, il existe de multiples mécanismes impliquant la production d'ARNdb chez les virus. La présence d'ARNdb viral peut provenir, par exemple, de la réplication du génome et de l'antigénome par l'ARN-polymérase ARN-dépendante (RdRp) comme dans le cas des virus à ARN simple brin à polarité positive (ARNsb(+)) (Figure 1) ou du produit de la transcription bidirectionnelle convergente (virus à génome ADN). De plus, l'ARNdb peut également résulter de la formation de structure en épingle à cheveux à partir d'un ARN simple brin. La présence d'ARNdb a d'abord été détectée dans des virus caractérisés par un génome ARNsb(+), dsRNA ou ADNdb [2], mais également dans des virus à ARN à brin négatif (ARNsb(-)) [3, 4]. Le large éventail de virus exprimant de l'ARNdb est illustré par le fait que l'interférence ARN (ARNi) antivirale, qui repose sur la détection d'ARNdb, a été démontré comme conférant une immunité contre une grande diversité de virus, y compris des virus ARNsb(-) ainsi que des virus à génome ADN [3, 5, 6]. Quelle que soit leur origine, la détection des molécules d'ARNdb repose sur les récepteurs de l'hôte afin d'être identifiés comme étant des AN étrangers. C'est pourquoi les cellules ont développé une vaste gamme de senseurs d'ARNdb. Ceux-ci vont des protéines induisant une cascade de signalisation comme le récepteur endosomal de la famille des protéines Toll (TLR3) chez les mammifères, aux récepteurs cytoplasmiques comme des hélicases à ARN DExD-box, ou aux protéines agissant directement sur l'ARNdb comme la protéine kinase R (PKR) et l'Adénosine Désaminase (ADAR) modifiant les ARN. Ces deux derniers, induits par l'interféron, agissent en tant que facteurs de restriction de la réplication virale, en induisant des hyper-mutations ou en dégradant les ARN viraux, respectivement.

Les hélicases des superfamilles (SF) 1 et 2 sont des enzymes qui utilisent l'ATP ou d'autres nucléotides pour fixer, se déplacer ou dérouler les molécules d'ADN ou d'ARN. Ces enzymes sont impliquées à tous les niveaux de la biogenèse des acides nucléiques [7]. Les protéines Dicer, qui sont des hélicases de la famille des hélicases à ARN DExD-box, peuvent agir directement sur l'ARNdb viral. Ces hélicases sont caractérisées par la présence d'un motif Asp-Glu-x-Asp (DExD), et un certain nombre d'entre elles jouent un rôle dans la reconnaissance des ARN étrangers. Dicer est un élément clé de la voie de l'ARNi. Chez les insectes, cette voie est l'un des principaux mécanismes de l'immunité innée antivirale. Dans plusieurs organismes, les protéines de la famille Dicer sont capables de détecter la présence d'ARNdb viral, et de le transformer en petits ARN interférents (siARN) de 20-25 nucléotides (nt), qui serviront de guide pour conduire une protéine de la famille Argonaute vers l'ARN viral complémentaire. Après l'appariement intermoléculaire des bases complémentaires, la

protéine Argonaute va cliver l'ARN viral, pouvant inhiber de ce fait la réplication virale [8]. Chez les vertébrés, qui ont développé l'immunité adaptative basée sur la reconnaissance d'antigènes spécifique, l'immunité innée reste active. Chez les mammifères, l'immunité innée antivirale repose sur la détection des acides nucléiques à l'aide de récepteurs assez semblables à Dicer, les récepteurs *Retinoid acid-inducible gene 1 (RIG-I)-like* (RLR) (Figure 1). Les RLR sont également des membres de la famille des hélicases DExD-box, et sont liés phylogénétiquement aux protéines Dicer. Les trois membres connus de la famille des RLR, à savoir RIG-I, *Melanoma Differentiation-Associated protein 5 (MDA-5)* et *Laboratory of Genetics and Physiology 2 (LGP2)*, forment un des groupes les plus importants de *Pattern Recognition Receptors (PRR)* antiviraux. Cependant, à l'opposé de Dicer, ils n'agissent pas de manière catalytique sur l'ARNdb. En plus de leur domaine hélicase, RIG-I et MDA-5 contiennent deux domaines amino-terminaux de recrutement de caspases (CARD), qui leur permettent d'interagir avec la molécule adaptatrice mitochondriale MAVS [9]. Cela conduira à l'induction d'interférons de type I (IFN) (principalement des IFN α et IFN β) et d'IFN de type III (IFN λ), qui sont une caractéristique de la détection d'AN par le système immunitaire inné. Plus récemment, il a été découvert que d'autres hélicases jouent un rôle dans l'immunité innée (par exemple DHX9, DHX36 et DHX41) [10–13].

Cependant, de la même manière que les hôtes ont développé des stratégies de défense contre les virus, les virus ont développé des contre-stratégies afin d'échapper au système immunitaire de l'hôte. Ceci est particulièrement bien illustré par les arbovirus, qui infectent à la fois les mammifères et les insectes afin de compléter leurs cycles de réplication. Dans les deux cas, les arbovirus peuvent être détectés par les hélicases à ARN de l'hôte, ils ont donc développé des mécanismes d'évasion contre la détection virale par des hélicases. Comme les arbovirus possèdent généralement de petits génomes, il est intéressant de voir s'ils disposent de moyens similaires pour échapper aux deux différents systèmes immunitaires. De plus, les arbovirus ont une importance toute particulière, maintenant que nous sommes pleinement conscients de la gravité potentielle des maladies zoonotiques émergentes et de la pertinence de les étudier à la fois chez les mammifères et dans leurs vecteurs.

ARN viral versus ARN cellulaire

Face à cette pression pour différencier le "non-soi" du "soi", les protéines de l'hôte, agissant comme des récepteurs détectant l'ARN étranger, ont évolué afin de former l'immunité aux acides nucléiques. Lors de l'évolution des organismes, des bactéries aux mammifères, des récepteurs spécifiques ainsi qu'un arsenal de nucléases ont été sélectionnés, permettant l'activation des voies immunitaires et le clivage des AN étrangers, respectivement. Cette reconnaissance dépend de plusieurs critères comme la structure, la localisation et la disponibilité des ligands acides nucléiques.

Afin de reconnaître les ARN viraux, les RLR et les protéines Dicer peuvent détecter plusieurs caractéristiques structurales des ARN viraux qui sont différentes des ARN cellulaires. L'une de ces caractéristiques est la nature double brin de l'ARN (Figure 2). Dans le cytoplasme, les molécules d'ARNdb générées lors d'une infection virale constituent un motif moléculaire majeur détecté par divers capteurs d'ARN. Les hélicases à ARN cytosoliques, comme les RLR chez les mammifères et Dicer-2 chez les insectes, sont essentielles pour détecter l'ARN viral et surtout la nature double brin de l'ARN [14]. De plus, il a été démontré que RIG-I reconnaît les extrémités 5' de l'ARNdb [15–17]. En effet, comme les molécules d'ARN naissantes sont

synthétisées à l'aide de nucléotides triphosphates (NTP), l'extrémité 5' de la molécule d'ARN contient un triphosphate libre (5'PPP). Cependant, les ARN endogènes eucaryotes sont synthétisés dans le noyau et sont ensuite maturés afin d'éliminer cette extrémité 5'PPP libre, par exemple des modifications des bases comme la coiffe 5', qui est ajoutée co-transcriptionnellement avant l'exportation dans le cytosol de manière ARN polymérase II dépendante (Figure 2). De plus, la présence d'un 5' monophosphate sur les ARN (ARN5'P), courante chez les ARN de l'hôte, antagonise activement la signalisation RIG-I, en inhibant l'activation de celle-ci [18]. Au contraire, la présence d'une extrémité 5'PPP (ARN5'PPP) met en évidence une activité de la polymérase dans le cytosol et est reconnue comme du "non-soi" (Figure 2). La présence d'ARN 5' diphosphate (ARN5'PP) à extrémité franche, comme retrouvé dans l'ARN génomique des réovirus, est également reconnue par RIG-I et induit l'expression d'IFN de type I [19]. Pour sa part, MDA-5, un autre membre de la famille des RLR, détecte les longs ARNdb. En effet, il a été démontré que MDA-5 reconnaît le poly(I:C), qui imite l'ARNdb [20, 21]. Chez les insectes, les longs ARNdb sont détectés par l'endonucléase Dicer-2, qui est jusqu'à présent le seul récepteur cytosolique antiviral connu. Il a été démontré que la protéine de drosophile Dicer-2 (dmDicer-2) reconnaît deux types de structures d'extrémités d'ARNdb, les extrémités 2 nt 3' sortants et les extrémités franches. En effet, la reconnaissance de ses substrats par dmDicer-2 dépend de deux domaines : le domaine plateforme-PAZ, qui contient une poche de liaison au phosphate et une poche de liaison à l'extrémité 2 nt 3' sortants [22], et le domaine hélicase, qui utilise de l'ATP afin de se déplacer sur l'ARNdb [23–25]. Il est à noter que les enzymes Dicer-2 partagent une origine phylogénétique commune du domaine hélicase, nécessaire pour la détection des AN, avec les RLR [14]. Des études structurales, biochimiques et génétiques pourraient permettre de mieux comprendre comment ce domaine hélicase conservé reconnaît ses substrats d'ARN.

Les modifications de l'ARN, communément appelées épitranscriptome, sont observées sur des résidus spécifiques des ARN cellulaires et jouent un rôle clé dans leur traitement et leur fonctionnalité, car ces étiquettes aident à faire la distinction entre le "soi" et le "non soi". Parmi plus de 150 modifications chimiques décrites, la méthylation des nucléotides à différentes positions est la plus abondante [26]. Plusieurs publications ont souligné l'importance de ces modifications pour la reconnaissance de l'ARN viral chez les mammifères. Les ARN présentant des modifications post-transcriptionnelles synthétisées *in vitro* n'activent pas le système immunitaire des mammifères, ce qui suggère que ces modifications masquent la reconnaissance par les récepteurs cytoplasmiques [27, 28]. Par exemple, l'édition de l'ARN par l'adénosine désaminase ADAR1 empêche la détection de l'ARNdb endogène comme "non-soi" par MDA-5 [29]. Des études récentes ont également démontré l'impact de la 2'-O-méthylation et de la N6-méthyladénosine (m⁶A) pour échapper à la détection virale par RIG-I ou MDA-5 [30, 31].

La présence de structures double brin, la nature biochimique de l'extrémité 5' des ARN et les marques épitranscriptomiques constituent donc les déterminants de la reconnaissance des acides nucléiques par le premier aspect évoqué. Un bon exemple du second aspect, la localisation, est la famille des récepteurs Toll (TLR). Chez les mammifères, les TLR sont des glycoprotéines transmembranaires localisées dans les compartiments endosomaux ou à la surface des cellules. Dans le cas des virus, ils permettent la reconnaissance des AN extracellulaires ou endocytés. En 2001, le TLR3 a été le premier récepteur d'ARN décrit comme induisant des IFN de type I en présence d'un ligand d'ARNdb [32]. Afin de reconnaître

toutes les différences mentionnées ci-dessus, la molécule d'ARN viral doit cependant être disponible pour interagir avec les différents capteurs de l'hôte. C'est là que le troisième aspect, la disponibilité, entre en jeu. La disponibilité de l'ARN viral est l'un des facteurs qui déterminera s'il sera détecté par l'hôte ou non. La détection de l'ARN viral dépendra également de sa concentration dans la cellule, de sa vitesse de dégradation et surtout, de sa protection par des protéines virales. En effet, les virus ont développé un certain nombre de stratégies pour protéger leurs composants de la cellule. Un exemple de ceci est la formation d'usines virales par certains virus, ou l'ajout de protéines comme la protéine virale VpG des picornavirus et des dicistrovirus qui est liée de manière covalente à l'extrémité 5' de l'ARNdb et empêche la dégradation par l'exonucléase XRN1 (Figure 2). Enfin, le recouvrement de l'ARN par des protéines virales est également un mécanisme de masquage employé par certains virus.

La reconnaissance d'ARNdb Dicer-dépendante

Chez les plantes, les champignons et les invertébrés, l'ARNi offre une protection contre les virus basée sur l'ARN. L'ARNi en tant que voie immunitaire antivirale est un mécanisme de défense utilisé par de nombreux organismes pour combattre les infections virales et repose sur la détection d'ARNdb. L'activité antivirale de l'ARNi, tout d'abord observée chez les plantes [33], a ensuite été mise en évidence chez les animaux, avec la découverte que le *Flock House Virus* (FHV) est à la fois un déclencheur et la cible de l'ARNi en cellules S2 de drosophile [34]. L'ARNi peut être subdivisée en trois voies principales : la voie du microARN (miARN), qui permet la régulation des gènes ; la voie de l'ARN piwi (piARN), qui régule les transposons et la voie des siARN, qui est responsable de l'inhibition des ARN exogènes et endogènes et est responsable de la restriction des ARN viraux. Comme indiqué précédemment, de nombreux virus produisent des ARNdb à un moment donné de leur cycle de réplication. Ces ARNdb sont reconnus par une endonucléase Dicer, qui les clive afin de produire de petits ARN interférents (siARN) (Figure 1, à droite). Ceux-ci seront ensuite chargés sur une protéine Argonaute afin de former le *RNA-Induced Silencing Complex* (RISC). Lors de la formation du complexe RISC, l'un des deux brins du duplex siARN sera éliminé, tandis que l'autre servira de guide pour conduire le RISC vers l'ARN viral complémentaire. Une fois que le RISC aura atteint sa cible, celle-ci sera clivée par la protéine Argonaute, puis dégradée, ce qui inhibera la réplication virale. Une caractéristique de la voie ARNi est la production de petits ARN de tailles spécifiques (généralement compris entre 21 et 30 nt). Une analyse métagénomique utilisant le séquençage de ces petits ARN a mis en évidence la présence de divers petits ARN dérivés de virus, et de réponses ARNi très divergentes chez les eucaryotes multicellulaires [35].

Comme expliqué plus haut, dans les voies de l'ARNi, les protéines responsables de la reconnaissance des ARNdb sont les protéines Dicer. Certains organismes, comme *Caenorhabditis elegans* ou *Homo sapiens*, ne codent qu'une seule protéine Dicer, qui produit à la fois des miARN et des siARN, et d'autres, comme *Drosophila melanogaster*, encodent deux protéines Dicer, spécifiques à l'une des deux voies (Figure 3). Les protéines Dicer font partie de la famille RN^{ase}III, ce qui signifie qu'elles sont des endonucléases spécifiques à l'ARNdb. En effet, elles possèdent un domaine central atypique de liaison à l'ARNdb (dsRBD), précédemment connu sous le nom de DUF283, un dsRBD C-terminal et deux domaines RN^{ase}III (Figure 3). L'activité RN^{ase}III de Dicer nécessite du Mg²⁺ [36, 37]. En outre, il a été démontré que deux autres domaines, comme le domaine hélicase et le domaine pateforme-PAZ, jouent un rôle dans la reconnaissance de l'ARNdb. Le domaine hélicase de Dicer, situé

à l'extrémité N-terminale de la protéine, n'hydrolyse pas l'ATP chez toutes les protéines Dicer décrites. La production de siARN à partir d'ARNdb nécessite de l'ATP chez *C. elegans* et *D. melanogaster*. Il est à noter que chez la drosophile, seul Dicer-2 (dmDicer-2), associé à la voie siARN, possède un domaine hélicase fonctionnel et est capable de lier l'ATP [38]. Au contraire, Dicer-1 (dmDicer-1), associée à la voie miARN, possède un domaine hélicase dégénéré. De plus, bien que le domaine hélicase soit conservé dans Dicer humain, l'hydrolyse de l'ATP n'est pas nécessaire pour le clivage de l'ARNdb *in vitro* [37]. De son côté, le domaine plateforme-PAZ contient une poche de liaison au phosphate, qui lui permet de reconnaître le 5'-monophosphate des substrats ARNdb, à la fois longs et courts. Il est donc capable d'ancrer l'extrémité 5' du substrat d'ARN. Cela garantit la production haute fidélité de siARN de 21 nt, car la distance entre la poche de liaison au phosphate et les domaines RN^{ase}III correspond exactement à 21 nt [22].

Chez *D. melanogaster*, deux modes d'action ont été décrits pour dmDicer-2, en fonction des extrémités du substrat ARNdb [39]. Grâce à des expériences de retard sur gel, Sinha *et al.* ont démontré que dmDicer-2 nécessite un domaine hélicase fonctionnel afin de lier l'ARNdb à extrémités franches, mais pas l'ARN à extrémités 2 nt 3' sortants. Deux types de substrats sont reconnus et clivés. Le premier, l'ARNdb à extrémités 2 nt 3' sortants, dépend du domaine plateforme-PAZ et le second, l'ARNdb à extrémité franches, dépend du domaine hélicase. Les extrémités 2 nt 3' sortants favorisent un mécanisme ATP-indépendant appelé "dicing distributif", tandis que les extrémités franches favorisent un mécanisme ATP-dépendant appelé "dicing processif". Dans le premier cas, qui est indépendant du domaine hélicase, dmDicer-2 se dissocie de la molécule d'ARNdb après chaque clivage pour produire un duplex siARN d'exactly 21 nt, tandis que dans le second, qui nécessite un domaine hélicase fonctionnel, dmDicer-2 produit une population hétérogène de multiples siARN avec une fidélité de longueur moindre avant de se dissocier. Il a été montré que le domaine plateforme-PAZ était crucial pour la haute fidélité de longueur des siARN, essentielle pour le "dicing" distributif par dmDicer-2 [22]. Une autre hypothèse est que seul le premier clivage de l'ARNdb à extrémités franches produit des siARN d'environ 21 nt et qu'après ce premier clivage, le mécanisme d'ancrage 5' monophosphate est possible, permettant à dmDicer-2 de produire des siARN de 21 nt avec une grande fidélité de taille, même lors du "dicing" processif [22]. Contrairement à dmDicer-2, Dicer humain (hDicer) ne distingue pas les extrémités du substrat ARNdb *in vitro* et le domaine hélicase ne permet pas le déplacement le long de la molécule [39]. De plus, la délétion du domaine hélicase de hDicer augmente sa processivité, ce qui suggère que le domaine hélicase perturbe sa fonctionnalité mais n'est pas nécessaire à la reconnaissance de l'ARNdb [40].

Les protéines dmDicer-2 et hDicer purifiées sont catalytiquement actives *in vitro* en l'absence de partenaires protéiques [23, 24, 40]. La plupart de ces partenaires sont des protéines de liaison à l'ARNdb (dsRBP), et interagissent avec le domaine hélicase des protéines de Dicer. Comme dmDicer-2, qui ne produit que des siARN, et hDicer, qui produit à la fois des siARN et des miARN, partagent une architecture de domaine similaire (Figure 3), les différences structurelles entre dmDicer-1 et dmDicer-2 sont peu susceptibles d'expliquer les spécificités de substrats [23]. Cependant, il a été démontré que les cofacteurs des différentes protéines de Dicer peuvent moduler ou restreindre cette spécificité de substrat. Par exemple, deux petites dsRBPs, R2D2 et Loqs-PD, interagissent avec dmDicer-2 et définissent les voies endo- et exo-siRNA en fonction de l'origine endogène ou exogène des dsRNAs [41, 42]. En effet, R2D2 ainsi que le phosphate inorganique empêchent dmDicer-2 de transformer les pré-

miARN en miARN et limitent dmDicer-2 à la production de siARN [23]. R2D2 forme un complexe stable avec dmDicer-2 et est nécessaire pour le chargement des siRNAs sur AGO2 [43, 44]. De plus, toujours chez *D. melanogaster*, différents isoformes de la protéine Loquacious (Loqs) sont impliquées dans différentes voies de l'ARNi : Loqs-PB et Loqs-PD sont impliquées dans le "dicing" des miARN et des endo-siARN, respectivement [41, 45]. Loqs-PD est nécessaire pour le clivage par dmDicer-2 d'un substrat sous-optimal, les endo-siRNA, mais il n'est pas requis pour l'ARNi antivirale [42, 46]. Il n'est cependant pas clair si R2D2 et Loqs-PD peuvent lier dmDicer-2 simultanément. Chez *Aedes aegypti*, un insecte vecteur hématoophage, DENV ne parvient pas à être contrôlé par la voie siARN dans l'intestin, même si la voie ARNi canonique est fonctionnelle. La protéine Loqs2, un cofacteur de R2D2, semble être le composant manquant dans l'intestin et serait indispensable pour la voie de l'ARNi antivirale chez *Aedes aegypti* [47]. Ensemble, ces études suggèrent que Dicer-2 pourrait être une protéine polyvalente dont le mode d'action est régulé par ses cofacteurs *in vivo*. Chez l'humain, hDicer peut former des complexes stables avec les protéines *Transactivation response RNA-binding protein* (TRBP) ou *Protein activator of PKR* (PACT). Ces deux RBP se lient aux mêmes sous-domaines de hDicer, ce qui suggère qu'elles interagissent avec hDicer de manière mutuellement exclusive [48]. Il a été montré que TRBP et PACT ont des effets distincts sur le "dicing" des ARNdb par hDicer. [49]. En effet, les complexes contenant PACT ou TRBP n'entraînent pas la production des mêmes isomiARN (séquences de miARN qui présentent des variations par rapport à la séquence du pré-miARN) à partir du même pré-miARN et PACT semble inhiber le "dicing" des pré-siARN [49]. Il est intéressant de noter que PACT et TRBP se lient toutes deux à la protéine kinase PKR induite par les interférons et impliquée dans la voie de signalisation RLR. Les deux voies partagent donc des interactants, ce qui suggère des liens entre ces deux voies. Il est également à noter que le RLR LGP2 se lie à hDicer et inhibe la transformation des ARNdb en siARN. [50]. L'étude de ces interactants permettra d'élucider les relations entre ces voies.

À ce jour, on ne sait pas si Dicer joue un rôle dans la défense antivirale des mammifères bien que chez les insectes, le rôle de Dicer-2 dans l'ARNi antivirale a été clairement établi [6, 34, 51]. Cependant, contrairement aux plantes et aux invertébrés, l'évolution a permis aux mammifères de sélectionner un autre système de défense contre les virus, le système IFN. L'existence ainsi que la pertinence d'une fonction antivirale de l'ARNi chez les mammifères, ont de ce fait été remises en question. Premièrement, la présence de poly(I:C), qui imite l'ARNdb, induit une forte réponse IFN RLR-dépendante [20, 21]. Deuxièmement, dans des cellules somatiques dans lesquelles la voie IFN a été désactivée, l'introduction d'ARNdb conduit à la production Dicer-dépendante de siARN et à un *silencing* AGO2-dépendant [52]. Certaines études vont même plus loin, car elles suggèrent que l'ARNi des mammifères est détectable dans des cellules somatiques compétentes pour la voie IFN [53, 54]. De plus, l'expression de dmDicer-2 dans des cellules HEK293 humaines altère la réponse IFN lors du traitement par poly(I:C) et semble entrer en compétition avec les facteurs de détection de l'ARNdb comme PKR [55]. Ceci met en évidence une incompatibilité fonctionnelle entre la machinerie Dicer et la réponse IFN. La présence de suppresseurs viraux d'ARNi (VSR) dans des virus de mammifères suggère l'implication de la voie du siRNA dans la réponse antivirale, car plusieurs de ces protéines virales ont été signalées comme interagissant directement avec Dicer ou codant pour des protéines de liaison de l'ARNdb [56, 57]. Plusieurs études ont mis en évidence un conflit inhérent entre la voie IFN et la machinerie de l'ARNi [50, 55, 58]. Cela pourrait, en partie, expliquer l'inefficacité de l'ARNi comme mécanisme de défense antivirale dans les cellules somatiques des mammifères.

La reconnaissance d'ARNdb RLR-dépendante

Contrairement aux enzymes Dicer, les RLR induisent une cascade de signalisation au lieu d'agir directement sur l'ARNdb afin d'induire une réponse antivirale globale (Figure 1, à gauche). Une fois qu'ils se lient à leurs ligands ARN, les protéines RIG-I subissent un changement conformationnel qui libère leurs domaines CARD, rendant ainsi l'oligomérisation possible. Afin de compléter son activation, RIG-I subit ensuite la polyubiquitination non dégradative de plusieurs de ses résidus de lysine, sous la forme de chaînes de polyubiquitine de type K63. Plusieurs protéines ont été proposées comme responsables de cette activation par polyubiquitination. Tout d'abord, Gack *et al.* ont suggéré que la *Tripartite motif protein 25* (TRIM25), pourrait être responsable de cette activation, par la polyubiquitination des domaines CARDS de RIG-I, en particulier sur le résidu K172 [59]. Deux autres protéines, MEX3C et TRIM4, ont ensuite été proposées, toujours pour la polyubiquitination des domaines CARDS [60, 61]. Enfin Oshiumi *et al.* propose que l'ubiquitine ligase Riplet est responsable de cette activation, cette fois-ci par la polyubiquitination du domaine CTD de RIG-I [62]. La potentielle redondance ou complémentarité de ces différentes protéines reste encore à élucider, mais quoi qu'il en soit, cette ubiquitination est cruciale pour l'interaction CARD-CARD qui suivra entre RIG-I et la protéine MAVS sur la mitochondrie [63]. Le mécanisme d'activation de MDA-5 quant à elle ne s'effectue pas par polyubiquitination, mais la liaison à ses ligands ARN entraîne la formation de polymères MDA-5 sensibles à l'ATP qui interagissent également avec MAVS [64]. Il en résulte la formation d'agrégats qui servent de plateforme de signalisation pour le recrutement et l'activation des protéines TRAF. Les protéines TRAF permettent l'activation de *TANK-binding kinase 1* (TBK1) et *I κ B kinase- ϵ* (IKK ϵ), qui à leur tour activent IRF3 et IRF7. Ces facteurs de transcription, ainsi que le facteur nucléaire- κ B (NF- κ B), transloquent dans le noyau, où ils induisent l'expression des interférons α et β (IFN α/β). La puissance de cette voie antivirale est amplifiée par la présence d'une boucle de rétroaction positive, car RIG-I, MDA-5 et LGP2 sont fortement induits par les IFN [65].

Lorsque RIG-I et MDA-5 se lient à leurs ligands ARN, ils s'activent et induisent la voie de signalisation IFN de type I. De nombreuses études ont porté sur le mécanisme d'auto-répression et d'activation de RIG-I [66, 67], avant que l'étude de cristaux de RIG-I dans des états à la fois sans et avec ligands ne montre la séquestration des deux domaines CARD par un domaine hélicoïdal à l'intérieur du domaine hélicase, maintenant ainsi RIG-I dans un état de répression [68] (Figure 1, à gauche). La liaison de l'ATP et du ligand ARN au domaine hélicase de RIG-I induit un changement conformationnel libérant les domaines CARD et permettant l'oligomérisation et la signalisation en aval. Contrairement à RIG-I, les domaines CARD de MDA-5 non-lié à son ligand sont flexibles et n'interagissent pas avec d'autres domaines de MDA-5 [69]. Au lieu de cela, MDA-5 s'autorégule de manière dépendante de la longueur de l'ARNdb [64]. Lorsque MDA-5 se lie à son ligand ARN, il s'assemble en polymères hélicoïdaux ressemblant à des filaments grâce à l'interaction des domaines CARD (Figure 1, à gauche). Ces filaments sont sensibles à l'hydrolyse de l'ATP, qui est stimulée par la liaison de MDA-5 à l'ARNdb et qui induit un désassemblage des filaments en fonction de leur longueur [64]. L'hydrolyse de l'ATP augmente la spécificité de la liaison des longs ARNdb et permet la formation de filaments plus continus et plus stables, tout en favorisant la dissociation des ARNdb courts [70]. De plus, il a été démontré que l'hydrolyse de l'ATP lors de la liaison de MDA-5 à l'ARNdb induit des distorsions significatives dans le squelette de l'ARNdb, et il a été proposé que ceci pourrait servir de mécanisme de contrôle, en testant les propriétés physiques de l'ARN, garantissant ainsi que MDA-5 reste seulement associé à son ligand spécifique [71].

RIG-I et MDA-5 ont des rôles essentiellement complémentaires, et ils reconnaissent des caractéristiques distinctes des ligands de ARN. RIG-I et MDA-5 peuvent tous deux se lier à l'ARNdb *in vitro*, mais RIG-I détecte de préférence l'extrémité 5' des ARNdb courts entre 30 et 300 pb [72, 66, 73, 74] tandis que MDA-5 détecte les ARNdb jusqu'à 2kb [21, 75]. Ces différences permettent la reconnaissance d'un large éventail de virus et l'activation de la réponse IFN. L'ARN5'PPP, ainsi que l'ARN5'PP, peut être reconnu par le RIG-I s'il possède une extrémité 5' dont au moins une portion est complètement apparié, ce qui est le cas pour de nombreux virus à génome ARNs(-) [15–17, 19, 72]. RIG-I peut donc détecter des infections par de nombreux virus à ARN à brin négatif comme le virus de la grippe A (IAV) ou le *Vesicular stomatitis virus* (VSV), (VSV), mais aussi certains virus à brin positif (par exemple HCV) [21, 76]. Par opposition, MDA-5 s'active lors d'infections par les picornavirus comme le virus de l'encéphalomyocardite (EMCV), dont l'extrémité 5' des ARN est protégée par la protéine virale VpG liée de manière covalente [21, 77]. Récemment, une analyse génomique comparative a révélé que la protéine MDA5 est inactivée par mutations chez les pangolins, contrairement à l'ordre des Carnivora (carnivores ressemblant à des chats et à des chiens) [78]. Ces données suggèrent que les pangolins ont des réponses antivirales différentes par rapport aux autres mammifères et pourraient donc être plus tolérants à certaines infections virales. Enfin, RIG-I et MDA-5 peuvent jouer des rôles redondants au cours de l'infection, car ils détectent tous deux des infections à réovirus et à flavivirus (par exemple DENV et le *West Nile virus* (WNV)), ce qui suggère que ces virus pourraient produire différentes espèces d'ARN au cours de l'infection [76, 79]. Il est intéressant de noter qu'une étude récente a identifié une protéine RIG-I résidant dans le noyau, impliquée dans la détection des ARN viraux nucléaires et capable d'induire une réponse de IFN contre IAV, un virus à ARN se répliquant dans le noyau [80]. Cette réponse antivirale est coordonnée entre ce RIG-I nucléaire et les composants cytoplasmiques du système IFN.

LGP2, le troisième membre de la famille des RLR, ne possède pas de domaines CARD et ne peut donc pas induire de cascade de signalisation via MAVS (Figure 4). Par conséquent, son rôle dans l'immunité antivirale n'est pas aussi clair. Comme MDA-5, LGP2 se lie à l'ARNdb indépendamment de l'extrémité 5'PPP de l'ARN [81]. Certains éléments indiquent que LGP2 possède une double fonction : il est à la fois un régulateur négatif de RIG-I et un régulateur positif de MDA-5 [82, 83]. Il a été suggéré que la régulation négative de la signalisation RIG-I s'effectue par le biais d'une concurrence pour l'ARNdb, et que la régulation positive de la signalisation MDA-5 nécessite l'hydrolyse de l'ATP par LGP2 [81, 84]. Soutenant l'hypothèse d'une régulation positive de MDA-5 par LGP2, les protéines du Paramyxovirus V ciblent le domaine hélicase de LGP2 et MDA5 (mais pas RIG-I car son domaine hélicase est différent de celui de LGP2 et MDA-5). En perturbant l'hydrolyse de l'ATP, les protéines V empêchent la régulation positive mais pas la régulation négative de la signalisation RLR, car il a été démontré que seule la régulation positive de MDA-5 nécessite de l'ATP [85, 86]. Il est intéressant de noter que le partenaire de hDicer, PACT, interagit également avec LGP2, et que cette interaction est nécessaire à la fois pour la régulation positive de la signalisation MDA-5-dépendante et pour la régulation négative de la signalisation RIG-I-dépendante [87]. Cette protéine, qui interagit à la fois avec hDicer et les RLR, pourrait être intéressante à étudier, car elle indique une connexion entre la machinerie de l'ARNi et la voie de signalisation des RLR [50].

Enfin, l'activité immunostimulatrice de l'ARN 5'PPP est supprimée par des modifications post-transcriptionnelles eucaryotes courantes comme la 2'-O-méthylation [15]. Par exemple, la tolérance de RIG-I aux ARN 2'-O-méthylés est médiée par un acide aminé conservé dans la poche de liaison de l'ARN de RIG-I, ce qui empêche leur reconnaissance [88]. Ce mécanisme de tolérance est très important, car une activité anormale des RLR (par exemple, l'activation constitutive des RLR due à des mutations dans les gènes associés) peut entraîner une détection aberrante des ARN cellulaires par les RLR. De plus en plus d'éléments suggèrent que l'hyperactivation des voies RLR est associée à un certain nombre de maladies comme certains types de maladies auto-immunes et de maladies auto-inflammatoires. Par exemple, des mutations dans les gènes codant pour MDA-5 et RIG-I ont été liées au développement du syndrome de Singleton-Merten [89, 90], du syndrome d'Aicardi-Goutières [91, 92] et du lupus érythémateux systémique [93, 94]. De plus, des études récentes ont mis en évidence les impacts positifs et négatifs de RIG-I dans différents types de cancer, car l'activation ectopique du RIG-I dans les cellules cancéreuses peut soit favoriser leur apoptose soit promouvoir leur résistance aux radiations et à la chimiothérapie en raison des niveaux élevés d'expression d'ISG [95–98]. Des recherches supplémentaires sont nécessaires afin de déterminer l'impact exact des RLR sur les cellules cancéreuses, et s'ils pourraient ou non être utilisées comme cibles thérapeutiques potentielles ou comme un élément à prendre en compte avant de prescrire certains traitements anticancéreux.

D'autres hélicases sont impliquées dans la détection virale

Il est intéressant de noter que des protéines de type RLR sont également présentes dans des organismes autres que les vertébrés comme dans le ver *C. elegans*, où trois gènes codent pour des homologues des récepteurs de type RLR appelés *dicer-related helicases* 1, 2 et 3 (DRH1, DRH-2 et DRH-3) [99, 100]. Il a été démontré que DRH-1 n'agit pas sur les longs ARNdb exogènes mais est essentiel pour l'ARNi antivirale, où il agit en aval de Dicer pour améliorer la production de siARN [101, 102]. Au-delà de la réponse antivirale canonique par RIG-I et MDA5, plusieurs hélicases DExD/H box ont été impliquées dans la détection de l'ARN viral [103]. Il a été démontré que les hélicases ARN DDX1, DDX21 et DHX36 forment un complexe et détectent l'ARNdb, ce qui conduit à l'activation de la réponse IFN de type I dans des cellules dendritiques myéloïdes [12]. Toujours en cellules dendritiques myéloïdes, il a été montré que DHX9 détecte le poly(I:C), les réovirus et IAV et induit une réponse antivirale [13]. Cette réponse dépend de l'interaction entre DHX9 et MAVS, par le biais du domaine CARD de MAVS, et suggère un rôle de DHX9 dans l'immunité antivirale. De plus, il a récemment été constaté que DHX9 augmentait l'expression d'un sous-ensemble de gènes stimulés par les interférons (*interferon-stimulated genes*, ISG) en réponse au virus Epstein-Barr (EBV), même s'il n'avait aucun impact sur la production d'IFN [10]. En apparence contradiction avec cela, il a été montré par plusieurs études précédentes que DHX9 est un facteur proviral [104–106] et en opposition avec les résultats de Zhang *et al.*, qu'il aide à la réplication et à la transcription de l'ARN chez IAV [107]. Des recherches supplémentaires semblent donc nécessaires afin de faire la lumière sur les effets contradictoires de DHX9 sur différents virus. D'autres hélicases ARN comme DDX60 sont elles-mêmes des ISG, permettant un renforcement de la réponse antivirale [108, 109]. Enfin, il a été découvert que DHX36 joue un rôle important dans la signalisation RIG-I, en facilitant sa liaison à l'ARN et la phosphorylation de PKR [11]. Comme un grand nombre d'hélicases ARN sont souvent associées à des ARN viraux, il serait intéressant d'étudier le rôle exact de chacune d'entre elles, afin de comprendre comment ces protéines pourraient jouer un rôle dans l'immunité antivirale et/ou dans la réplication virale.

Les arbovirus sont ciblés à la fois par les RLR et Dicer

Afin d'échapper à la reconnaissance d'une détection hélicase-dépendante, les virus ont développé un certain nombre de stratégies différentes, en fonction du système immunitaire contre lequel ils doivent se défendre. Les virus transmis par les arthropodes, appelés arbovirus, ont la particularité de devoir se défendre à la fois contre l'ARNi et la voie IFN, puisqu'ils doivent se répliquer dans les insectes et les mammifères. Ils sont transmis à des hôtes vertébrés par des arthropodes hématophages (qui se nourrissent de sang) comme les moustiques. Les arbovirus de la famille des *Flaviviridae* regroupent des virus particulièrement importants en Santé publique tels que dengue virus (DENV), yellow fever virus (YFV), West Nile virus (WNV), Kunjin virus (KUNV) et Zika virus (ZIKV) souvent responsables de symptômes graves chez l'humain [110].

Chez les mammifères, diverses protéines arbovirales ont des fonctions liées à l'évasion virale. Pour ne citer qu'un exemple, DENV est connu pour exprimer un certain nombre de protéines impliquées dans l'inhibition de la signalisation RLR comme NS2A, NS3, NS4A, NS4B et NS5 (Figure 5). NS3 se lie à la protéine 14-3-3 ϵ responsable de la translocation de RIG-I vers la mitochondrie inhibant ainsi l'interaction entre MAVS et RIG-I [111], également inhibée par l'interaction de NS4A avec MAVS [112]. De plus, NS4B et NS2A empêchent la phosphorylation de TBK1 ainsi que la phosphorylation de IRF3 qui s'ensuit [113]. NS5 induit une 2'O-méthylation sur l'ARN viral, imitant ainsi les ARNm cellulaires [114]. Enfin, un autre facteur de DENV a un impact sur la voie RLR : un petit ARN sub-génomique de flavivirus (*subgenomic flavivirus RNA*, sfRNA) produit par l'ensemble des espèces du genre *Flavivirus*. Il a été identifié comme le produit d'une dégradation incomplète par l'exoribonucléase XRN1 5'-3', en raison de la présence de structures hautement conservées qui empêchent cette nucléase de digérer la région 3'UTR [115]. sfRNA inhibe l'activation de RIG-I en se liant à la protéine TRIM25, qui ubiquitine généralement RIG-I afin de l'activer [116].

Cependant, la nécessité de développer des VSR à proprement parler pour lutter contre l'ARNi chez le moustique a été sujet à débat. En effet, les arbovirus semblent être continuellement ciblés par l'ARNi [117], mais les infections sont généralement asymptomatiques chez les moustiques vecteurs lorsque la voie de l'ARNi est fonctionnelle. En revanche, l'inhibition de l'ARNi est préjudiciable aux moustiques *Aedes* dans le cadre d'une infection par les alphavirus, car l'utilisation d'un virus Sindbis (SINV) recombinant exprimant le VSR B2 du FHV augmente la mortalité des moustiques par rapport au SINV de type sauvage [118]. L'inhibition de l'ARNi chez les moustiques vecteurs pourrait donc avoir un impact sur la condition physique des vecteurs et ainsi entraver la transmission du virus. De ce fait, les arbovirus ont-ils vraiment besoin de VSR ou peuvent-ils simplement laisser le système immunitaire du vecteur contrôler le titre viral afin de se propager pendant une période plus longue ? Même si l'absence de VSR chez les arbovirus a longtemps été présumée, certains VSR ont été identifiés chez les flavivirus (DENV, WNV, KUNV et YFV), puis chez d'autres arbovirus tels que le virus du chikungunya (CHIKV, famille *Togaviridae*, genre *Alphavirus*) [119–121].

Il a été démontré que le sfRNA de DENV et WNV inhibe les voies de l'ARNi induites par les siRNA et les miRNA en cellules de mammifères et d'insectes [119]. Cela a été confirmé par des résultats montrant que le sfRNA de DENV et de KUNV réprime de manière significative l'ARNi de la voie des siARN dans des cellules humaines infectées et pendant l'infection du moustique vecteur *Culex* et qu'il s'associe à Dicer-2 et AGO2 [120]. Cependant, une autre

étude n'a pas réussi à constater de différence significative dans l'abondance des siARN viraux après une infection par le WNV de type sauvage ou déficient en sfRNA1 chez les moustiques *Culex* [122]. Les auteurs ont cependant montré que le sfRNA est traité par la machinerie ARNi des moustiques et que les mutants WNV déficients en sfRNA ont un profil de siARN dérivé du virus différentiel dans le 3'UTR. Les différentes études semblent s'accorder sur l'hypothèse que le sfRNA produit en abondance pourrait agir comme un leurre pour empêcher la machine ARNi de traiter l'ARN viral génomique moins abondant.

Toujours chez les virus du genre *Flavivirus*, deux protéines de DENV, NS4B [123] puis NS2A [124] ont été présentées comme des VSR potentiels. NS4B inhibe l'ARNi en interférant avec l'activité de hDicer dans des cellules de mammifères, mais le mécanisme sous-jacent reste inconnu. NS2A supprime la production Dicer-dépendante de siARN à la fois chez les mammifères et les moustiques. Les auteurs ont découvert que NS2A, qui est capable de lier l'ARNdb *in vitro*, inhibe l'ARNi en séquestrant les ARNdb de hDicer. Cependant, une étude utilisant des moustiques infectés par SINV capable de générer le sfRNA du WNV ou NS2B de DENV n'a pas permis de constater de différence significative par rapport à la survie des moustiques infectés par des virus contrôles [121]. Ces résultats ont été corroborés par la mesure de la charge virale, ce qui suggère que ces VSR offrent une protection négligeable contre l'ARNi chez *Aedes aegypti*. Cela pourrait suggérer que l'expression de ces VSR potentiels ne suffit pas à elle seule à inhiber l'ARNi, et qu'ils pourraient nécessiter la présence d'un autre facteur. En utilisant le même système, la capsid du YFV a également été identifiée comme un autre VSR se liant à l'ARNdb. Les auteurs suggèrent que YFV agit en protégeant l'ARNdb et en empêchant son traitement par Dicer-2. Enfin, en utilisant un test de réversion de l'expression de la GFP pour évaluer l'activité de suppression des senseurs de l'ARNi dans les cellules, Mathur *et al.* ont identifié les protéines nsP2 et nsP3 du CHIKV comme étant des VSR [125]. Ils ont démontré que cette activité de suppression de l'ARNi repose sur les motifs de liaison à l'ARN des deux protéines, conservés dans tous les alphavirus. Cela suggère un potentiel recouvrement de l'ARN ou inhibition du "dicing" par ces deux VSR.

À ce jour, le rôle potentiel de la plupart des VSR d'arbovirus reste donc incertain. Comme mentionné précédemment, les arbovirus passent d'un système ARNi antiviral chez les insectes à un système IFN chez les mammifères. Les interactions entre ces deux systèmes ne sont pas encore totalement élucidés, mais une compétition entre les deux a été mise en évidence. Chez les mammifères, le fait d'inhiber l'ARNi pourrait-il donc potentiellement renforcer le système IFN ? L'étude des arbovirus pourrait s'avérer utile afin de comprendre les différences et les similitudes entre les voies des RLR et de l'ARNi antivirale, ainsi que les stratégies potentielles d'évasion virale qui pourraient s'appliquer aux deux mécanismes. En effet, l'existence d'une pression de sélection pour le développement de mécanismes d'évasion efficaces face à ces deux systèmes est envisageable. Celle-ci favoriserait potentiellement les mécanismes de masquage, comme la formation d'usines virales, par rapport aux mécanismes ciblant les acteurs d'un des deux systèmes, comme les VSR. Par exemple, des arbovirus comme DENV et d'autres flavivirus se répliquent dans des membranes convolutées [126], et ces usines virales pourrait empêcher la reconnaissance aussi bien RLR-dépendante que Dicer-dépendantes. Cette stratégie, et potentiellement d'autres, pourrait avoir évolué comme un moyen d'empêcher la reconnaissance à la fois de l'ARNi et des RLR.

Échappement viral à la détection des ARNdb

L'exemple des arbovirus illustre certaines des stratégies utilisées par les virus pour échapper au système immunitaire inné. En général, ces stratégies empêchent la reconnaissance de l'ARNdb par le système immunitaire de l'hôte ou entravent la réponse immunitaire qui s'ensuit. Dans cette revue, nous ne détaillerons que les stratégies empêchant la reconnaissance des ARNdb par les hélicases. Une stratégie pour empêcher la reconnaissance du génome viral par les récepteurs cytoplasmiques consiste à le déguiser, en imitant les ARN cellulaires. Pour ce faire, de nombreux virus induisent des modifications épitranscriptomiques sur leur matériel génétique afin de leurrer le système immunitaire. Un certain nombre de virus qui se répliquent dans le cytoplasme ont développé une 2'O-méthyltransférase pour induire une 2'O-méthylation du ribose, similaire à celle présente sur les ARNm coiffés. En utilisant des modèles de coronavirus murin et humain, Züst *et al.* ont montré que cette modification empêche la reconnaissance de l'ARNm viral par MDA-5 [127]. De même, une étude récente a montré que l'ARN du VIH est modifié par la 2'-O-méthyltransférase FTSJ3 et aide le virus à éviter de déclencher la réponse à l'interféron [30]. Une autre modification, la N6-méthyladénosine (m⁶A), a été trouvée sur les ARNm de virus tels que HCV (hépatite C), ZIKV, DENV, YFV et affecte la réplication ainsi que la localisation des ARN viraux [27, 128, 129], ce qui pourrait être un mécanisme de régulation partagé par de nombreux virus [130]. Certains virus sont transmis à l'homme par des insectes vecteurs, et il pourrait donc être utile d'étudier le rôle de ces modifications chez les insectes vecteurs tels que les moustiques, afin de savoir si les marques épitranscriptomiques peuvent empêcher la reconnaissance par Dicer-2. Cependant, très peu d'études ont été consacrées au rôle des modifications de l'ARN viral, malgré l'identification de certaines modifications de l'ARN présentes sur les ARNm de virus [30]. De plus, une étude récente a montré que les ARN sans la modification m⁶A améliorent la détection virale par RIG-I [31]. Cette modification pourrait donc être utilisée par les virus afin d'éviter la détection par le système immunitaire inné.

L'acquisition d'ARN viraux coiffés est un autre type de mimétisme permettant de ressembler aux ARNm cellulaires. Cela peut être réalisé grâce à l'utilisation d'enzymes cellulaires synthétisant les coiffes, comme c'est le cas pour la plupart des virus à ADN qui, après s'être répliqués dans le noyau, sont ensuite coiffés, comme les ARN cellulaires. Certains virus codent également leur propre machinerie de coiffage, comme le vaccinia virus et l'orthoréovirus [131, 132]. La coiffe peut également être synthétisée par un mécanisme de coiffe non conventionnel, comme pour les Rhabdovirus ou les Alphavirus [133, 134]. Les coiffes ainsi synthétisées sont similaires aux coiffes synthétisées par le biais d'un coiffage conventionnel, bien que le mécanisme par lequel ils sont produits diffère. Enfin, certains virus utilisent un mécanisme appelé "Cap Snatching" pour voler les coiffes des ARNm cellulaires, comme dans le cas de certains virus à ARNs(-). Par exemple, l'IAV est capable de voler de courtes extrémités 5' de transcrits coiffés produits par l'ARN-polymérase ADN-dépendante II cellulaire et de les utiliser comme une coiffe 5' et une amorce pour initier la transcription de l'ARN viral [135–137].

Une autre stratégie consiste à cacher complètement l'ARNdb des senseurs, par exemple en utilisant des protéines virales pour enrober l'ARNdb ou en effectuant la réplication de l'ARN à l'intérieur de vésicules induites par le virus appelées usines virales, usines de réplication ou organites de réplication. Les virus à ARN(+) sont connus pour répliquer leurs génomes dans des structures membranaires (par exemple *Picornaviridae*, *Flaviviridae*, *Togaviridae*, *Coronaviridae* et *Arteriviridae*). Outre les virus à ARN(+), les membres de la famille des

Poxviridae, comme le virus vaccinia, sont de grands virus à ADN connus pour former des usines à virus [138]. Contrairement à la plupart des virus à ADN, les poxvirus répliquent leur génome dans le cytoplasme, et doivent donc protéger leur site de réplication des facteurs cellulaires. L'un des virus les plus connus qui provoquent des altérations membranaires est le poliovirus, qui induit un remodelage des membranes du réticulum endoplasmique (RE) à l'intérieur desquelles il se répliquera [139]. La même stratégie est utilisée pour vaincre l'ARNi, par exemple par le DENV, qui se réplique dans les membranes convolutées du réticulum endoplasmique [126]. La séquestration des complexes de réplication des flavivirus dans ces vésicules limite l'accès de Dicer-2 aux intermédiaires de réplication ARNdb. De plus, certains virus à ARNs(-) induisent la formation d'un autre type d'usines virales, comme dans le cas des corps de Negri du virus de la rage, qui sont des inclusions cytoplasmiques similaires à des organites liquides par séparation de phase [140]. Enfin, au lieu de protéger l'ARNdb à l'intérieur des usines à virus, certaines protéines virales peuvent le protéger en le recouvrant, empêchant ainsi la liaison des senseurs d'ARNdb. C'est le cas de la protéine VP35 des virus EBOV et Marburg virus [141, 142], de la protéine NS1 de IAV [143] et des protéines N du VSV [144].

En conclusion, le rôle crucial des hélicases ARN cytoplasmique pour la détection de l'ARNdb viral a été largement démontré. Ce rôle sera précisé davantage par l'élucidation du rôle des protéines accessoires dans la modulation et la restriction de cette détection, ainsi que le mécanisme moléculaire précis de leur reconnaissance et de leur activation. Cette distinction entre le "soi" et le "non-soi" est particulièrement pertinente car il a été démontré que sa dérégulation a un impact sur des maladies humaines, dans le contexte des maladies auto-immunes par exemple. Comme indiqué précédemment, ces deux voies pourraient ne pas être aussi séparées qu'il n'y paraît et plusieurs études ont mis en évidence le cross-over potentiel entre les voies de l'IFN et de l'ARNi. La dynamique d'interaction et l'incompatibilité potentielle entre ces deux voies sont encore sujettes à débat et l'étude des interactions génétiques et biochimiques entre les deux voies pourrait être intéressante.

Remerciements. Claire Rousseau a écrit le manuscrit, effectué la traduction française et fait les figures. Carine Meignin a corrigé et édité la revue et sa traduction. Les auteurs remercient Jean-Luc Imler pour sa lecture critique du manuscrit ainsi que ses commentaires utiles. Claire Rousseau est financée par une bourse doctorale du Ministère de l'Education et de la Recherche.

Conflits d'intérêt : Aucun.

- [1] Schlee M, Hartmann G. Discriminating self from non-self in nucleic acid sensing. *Nat Rev Immunol* 2016; 16: 566–580.
- [2] Weber F, Wagner V, Rasmussen SB, et al. Double-stranded RNA is produced by positive-strand RNA viruses and DNA viruses but not in detectable amounts by negative-strand RNA viruses. *J Virol* 2006; 80: 5059–5064.
- [3] Mueller S, Gausson V, Vodovar N, et al. RNAi-mediated immunity provides strong protection against the negative-strand RNA vesicular stomatitis virus in *Drosophila*. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 2010; 107: 19390–5.
- [4] Son K-N, Liang Z, Lipton HL. Double-Stranded RNA Is Detected by Immunofluorescence Analysis in RNA and DNA Virus Infections, Including Those by Negative-Stranded RNA Viruses. *J Virol* 2015; 89: 9383–9392.
- [5] Bronkhorst AW, Cleef KWR van, Vodovar N, et al. The DNA virus Invertebrate iridescent virus 6 is a target of the *Drosophila* RNAi machinery. *PNAS* 2012; 109: E3604–E3613.
- [6] Kemp C, Mueller S, Goto A, et al. Broad RNA interference-mediated antiviral immunity and virus-specific inducible responses in *Drosophila*. *J Immunol* 2013; 190: 650–658.
- [7] Mallam AL, Sidote DJ, Lambowitz AM. Molecular insights into RNA and DNA helicase evolution from the determinants of specificity for a DEAD-box RNA helicase. *eLife* 2014; 3: e04630.
- [8] Talide L, Imler J-L, Meignin C. Sensing Viral Infections in Insects: A Dearth of Pathway Receptors. *Curr Issues Mol Biol* 2020; 34: 31–60.
- [9] Kawai T, Akira S. Toll-like Receptors and Their Crosstalk with Other Innate Receptors in Infection and Immunity. *Immunity* 2011; 34: 637–650.
- [10] Fu W, Verma D, Burton A, et al. Cellular RNA Helicase DHX9 Interacts with the Essential Epstein-Barr Virus (EBV) Protein SM and Restricts EBV Lytic Replication. *J Virol*; 93. Epub ahead of print 15 2019. DOI: 10.1128/JVI.01244-18.
- [11] Yoo J-S, Takahasi K, Ng CS, et al. DHX36 Enhances RIG-I Signaling by Facilitating PKR-Mediated Antiviral Stress Granule Formation. *PLOS Pathogens* 2014; 10: e1004012.
- [12] Zhang Z, Kim T, Bao M, et al. DDX1, DDX21, and DHX36 Helicases Form a Complex with the Adaptor Molecule TRIF to Sense dsRNA in Dendritic Cells. *Immunity* 2011; 34: 866–878.
- [13] Zhang Z, Yuan B, Lu N, et al. DHX9 Pairs with IPS-1 To Sense Double-Stranded RNA in Myeloid Dendritic Cells. *J Immunol* 2011; 187: 4501–4508.
- [14] Paro S, Imler J-L, Meignin C. Sensing viral RNAs by Dicer/RIG-I like ATPases across species. *Current Opinion in Immunology* 2015; 32: 106–113.
- [15] Hornung V, Ellegast J, Kim S, et al. 5'-Triphosphate RNA Is the Ligand for RIG-I. *Science* 2006; 314: 994–997.
- [16] Pichlmair A, Schulz O, Tan CP, et al. RIG-I-Mediated Antiviral Responses to Single-Stranded RNA Bearing 5'-Phosphates. *Science* 2006; 314: 997–1001.
- [17] Schlee M, Roth A, Hornung V, et al. Recognition of 5' Triphosphate by RIG-I Helicase Requires Short Blunt Double-Stranded RNA as Contained in Panhandle of Negative-Strand Virus. *Immunity* 2009; 31: 25–34.
- [18] Ren X, Linehan MM, Iwasaki A, et al. RIG-I Selectively Discriminates against 5'-Monophosphate RNA. *Cell Reports* 2019; 26: 2019-2027.e4.
- [19] Goubau D, Schlee M, Deddouche S, et al. Antiviral immunity via RIG-I-mediated recognition of RNA bearing 5'-diphosphates. *Nature* 2014; 514: 372–375.
- [20] Yoneyama M, Kikuchi M, Matsumoto K, et al. Shared and Unique Functions of the DExD/H-Box Helicases RIG-I, MDA5, and LGP2 in Antiviral Innate Immunity. *The Journal of Immunology* 2005; 175: 2851–2858.
- [21] Kato H, Takeuchi O, Sato S, et al. Differential roles of MDA5 and RIG-I helicases in the recognition of RNA viruses. *Nature* 2006; 441: 101–105.

- [22] Kandasamy SK, Fukunaga R. Phosphate-binding pocket in Dicer-2 PAZ domain for high-fidelity siRNA production. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 2016; 113: 14031–14036.
- [23] Cenik ES, Fukunaga R, Lu G, et al. Phosphate and R2D2 Restrict the Substrate Specificity of Dicer-2, an ATP-Driven Ribonuclease. *Molecular Cell* 2011; 42: 172–184.
- [24] Welker NC, Maity TS, Ye X, et al. Dicer's Helicase Domain Discriminates dsRNA Termini to Promote an Altered Reaction Mode. *Molecular Cell* 2011; 41: 589–599.
- [25] Donelick HM, Talide L, Bellet M, et al. In vitro studies provide insight into effects of Dicer-2 helicase mutations in *Drosophila melanogaster*. *RNA*. Epub ahead of print 25 August 2020. DOI: 10.1261/rna.077289.120.
- [26] Motorin Y, Helm M. RNA nucleotide methylation. *Wiley Interdiscip Rev RNA* 2011; 2: 611–631.
- [27] Karikó K, Buckstein M, Ni H, et al. Suppression of RNA Recognition by Toll-like Receptors: The Impact of Nucleoside Modification and the Evolutionary Origin of RNA. *Immunity* 2005; 23: 165–175.
- [28] Durbin AF, Wang C, Marcotrigiano J, et al. RNAs Containing Modified Nucleotides Fail To Trigger RIG-I Conformational Changes for Innate Immune Signaling. *mBio* 2016; 7: e00833-16, /mbio/7/5/e00833-16.atom.
- [29] Liddicoat BJ, Piskol R, Chalk AM, et al. RNA editing by ADAR1 prevents MDA5 sensing of endogenous dsRNA as nonself. *Science* 2015; 349: 1115–1120.
- [30] Ringeard M, Marchand V, Decroly E, et al. FTSJ3 is an RNA 2'-O-methyltransferase recruited by HIV to avoid innate immune sensing. *Nature* 2019; 565: 500–504.
- [31] Lu M, Zhang Z, Xue M, et al. N6-methyladenosine modification enables viral RNA to escape recognition by RNA sensor RIG-I. *Nat Microbiol* 2020; 5: 584–598.
- [32] Alexopoulou L, Holt AC, Medzhitov R, et al. Recognition of double-stranded RNA and activation of NF-kappaB by Toll-like receptor 3. *Nature* 2001; 413: 732–738.
- [33] Lindbo JA, Silva-Rosales L, Proebsting WM, et al. Induction of a Highly Specific Antiviral State in Transgenic Plants: Implications for Regulation of Gene Expression and Virus Resistance. *The Plant Cell* 1993; 5: 1749–1759.
- [34] Li H, Li WX, Ding SW. Induction and suppression of RNA silencing by an animal virus. *Science* 2002; 296: 1319–1321.
- [35] Waldron FM, Stone GN, Obbard DJ. Metagenomic sequencing suggests a diversity of RNA interference-like responses to viruses across multicellular eukaryotes. *PLOS Genetics* 2018; 14: e1007533.
- [36] Provost P, Dishart D, Doucet J, et al. Ribonuclease activity and RNA binding of recombinant human Dicer. *The EMBO Journal* 2002; 21: 5864–5874.
- [37] Zhang H. Human Dicer preferentially cleaves dsRNAs at their termini without a requirement for ATP. *The EMBO Journal* 2002; 21: 5875–5885.
- [38] Lee YS, Nakahara K, Pham JW, et al. Distinct Roles for *Drosophila* Dicer-1 and Dicer-2 in the siRNA/miRNA Silencing Pathways. *Cell* 2004; 117: 69–81.
- [39] Sinha NK, Iwasa J, Shen PS, et al. Dicer uses distinct modules for recognizing dsRNA termini. *Science (New York, NY)* 2018; 359: 329–334.
- [40] Ma E, MacRae IJ, Kirsch JF, et al. Autoinhibition of human dicer by its internal helicase domain. *J Mol Biol* 2008; 380: 237–243.
- [41] Hartig JV, Förstemann K. Loqs-PD and R2D2 define independent pathways for RISC generation in *Drosophila*. *Nucleic Acids Res* 2011; 39: 3836–3851.
- [42] Marques JT, Wang J-P, Wang X, et al. Functional Specialization of the Small Interfering RNA Pathway in Response to Virus Infection. *PLoS Pathogens* 2013; 9: e1003579.
- [43] Liu Q, Rand TA, Kalidas S, et al. R2D2, a bridge between the initiation and effector steps of the *Drosophila* RNAi pathway. *Science* 2003; 301: 1921–1925.
- [44] Liu X, Jiang F, Kalidas S, et al. Dicer-2 and R2D2 coordinately bind siRNA to promote assembly of the siRISC complexes. *RNA* 2006; 12: 1514–1520.
- [45] Fukunaga R, Han BW, Hung J-H, et al. Dicer Partner Proteins Tune the Length of Mature miRNAs in Flies and Mammals. *Cell* 2012; 151: 533–546.

- [46] Trettin KD, Sinha NK, Eckert DM, et al. Loquacious-PD facilitates Drosophila Dicer-2 cleavage through interactions with the helicase domain and dsRNA. *Proc Natl Acad Sci USA* 2017; 114: E7939–E7948.
- [47] Olmo RP, Ferreira AGA, Izidoro-Toledo TC, et al. Control of dengue virus in the midgut of *Aedes aegypti* by ectopic expression of the dsRNA-binding protein Loqs2. *Nat Microbiol* 2018; 3: 1385–1393.
- [48] Hansen SR, Aderounmu AM, Donelick HM, et al. Dicer's Helicase Domain: A Meeting Place for Regulatory Proteins. *Cold Spring Harb Symp Quant Biol* 2020; 039750.
- [49] Lee HY, Zhou K, Smith AM, et al. Differential roles of human Dicer-binding proteins TRBP and PACT in small RNA processing. *Nucleic Acids Research* 2013; 41: 6568–6576.
- [50] Veen AG, Maillard PV, Schmidt JM, et al. The RIG-I-like receptor LGP2 inhibits Dicer-dependent processing of long double-stranded RNA and blocks RNA interference in mammalian cells. *EMBO J*; 37. Epub ahead of print 15 February 2018. DOI: 10.15252/embj.201797479.
- [51] Gammon DB, Mello CC. RNA interference-mediated antiviral defense in insects. *Curr Opin Insect Sci* 2015; 8: 111–120.
- [52] Maillard PV, Van der Veen AG, Deddouche-Grass S, et al. Inactivation of the type I interferon pathway reveals long double-stranded RNA-mediated RNA interference in mammalian cells. *EMBO J* 2016; 35: 2505–2518.
- [53] Li Y, Basavappa M, Lu J, et al. Induction and suppression of antiviral RNA interference by influenza A virus in mammalian cells. *Nat Microbiol* 2017; 2: 16250.
- [54] Qiu Y, Xu Y, Zhang Y, et al. Human Virus-Derived Small RNAs Can Confer Antiviral Immunity in Mammals. *Immunity* 2017; 46: 992-1004.e5.
- [55] Girardi E, Lefèvre M, Chane-Woon-Ming B, et al. Cross-species comparative analysis of Dicer proteins during Sindbis virus infection. *Scientific Reports* 2015; 5: 10693.
- [56] Maillard PV, Veen AG, Poirier EZ, et al. Slicing and dicing viruses: antiviral RNA interference in mammals. *EMBO J*; 38. Epub ahead of print 15 April 2019. DOI: 10.15252/embj.2018100941.
- [57] Bellott L, Gilmer D, Michel F. Hit two birds with one stone: the multiple properties of (viral) RNA silencing suppressors. *Virologie (Montrouge)* 2019; 23: 335–358.
- [58] Seo GJ, Kincaid RP, Phanaksri T, et al. Reciprocal inhibition between intracellular antiviral signaling and the RNAi machinery in mammalian cells. *Cell Host Microbe*; 14. Epub ahead of print 16 October 2013. DOI: 10.1016/j.chom.2013.09.002.
- [59] Gack MU, Shin YC, Joo C-H, et al. TRIM25 RING-finger E3 ubiquitin ligase is essential for RIG-I-mediated antiviral activity. *Nature* 2007; 446: 916–920.
- [60] Kuniyoshi K, Takeuchi O, Pandey S, et al. Pivotal role of RNA-binding E3 ubiquitin ligase MEX3C in RIG-I-mediated antiviral innate immunity. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 2014; 111: 5646–5651.
- [61] Yan J, Li Q, Mao A-P, et al. TRIM4 modulates type I interferon induction and cellular antiviral response by targeting RIG-I for K63-linked ubiquitination. *Journal of Molecular Cell Biology* 2014; 6: 154–163.
- [62] Oshiumi H, Miyashita M, Inoue N, et al. The Ubiquitin Ligase Riplet Is Essential for RIG-I-Dependent Innate Immune Responses to RNA Virus Infection. *Cell Host & Microbe* 2010; 8: 496–509.
- [63] Gack MU, Kirchhofer A, Shin YC, et al. Roles of RIG-I N-terminal tandem CARD and splice variant in TRIM25-mediated antiviral signal transduction. *PNAS* 2008; 105: 16743–16748.
- [64] Peisley A, Lin C, Wu B, et al. Cooperative assembly and dynamic disassembly of MDA5 filaments for viral dsRNA recognition. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 2011; 108: 21010–21015.
- [65] Takeuchi O, Akira S. Pattern Recognition Receptors and Inflammation. *Cell* 2010; 140: 805–820.

- [66] Takahasi K, Yoneyama M, Nishihori T, et al. Nonsel f RNA-Sensing Mechanism of RIG-I Helicase and Activation of Antiviral Immune Responses. *Molecular Cell* 2008; 29: 428–440.
- [67] Yoneyama M, Kikuchi M, Natsukawa T, et al. The RNA helicase RIG-I has an essential function in double-stranded RNA-induced innate antiviral responses. *Nature Immunology* 2004; 5: 730–737.
- [68] Kowalinski E, Lunardi T, McCarthy AA, et al. Structural basis for the activation of innate immune pattern-recognition receptor RIG-I by viral RNA. *Cell* 2011; 147: 423–435.
- [69] Berke IC, Modis Y. MDA5 cooperatively forms dimers and ATP-sensitive filaments upon binding double-stranded RNA. *The EMBO Journal* 2012; 31: 1714–1726.
- [70] Peisley A, Jo MH, Lin C, et al. Kinetic mechanism for viral dsRNA length discrimination by MDA5 filaments. *Proc Natl Acad Sci USA* 2012; 109: E3340–3349.
- [71] Yu Q, Qu K, Modis Y. Cryo-EM Structures of MDA5-dsRNA Filaments at Different Stages of ATP Hydrolysis. *Molecular Cell* 2018; 72: 999–1012.e6.
- [72] Kato H, Takeuchi O, Mikamo-Satoh E, et al. Length-dependent recognition of double-stranded ribonucleic acids by retinoic acid-inducible gene-I and melanoma differentiation-associated gene 5. *The Journal of experimental medicine* 2008; 205: 1601–10.
- [73] Ranjith-Kumar CT, Murali A, Dong W, et al. Agonist and antagonist recognition by RIG-I, a cytoplasmic innate immunity receptor. *J Biol Chem* 2009; 284: 1155–1165.
- [74] Binder M, Eberle F, Seitz S, et al. Molecular mechanism of signal perception and integration by the innate immune sensor retinoic acid-inducible gene-I (RIG-I). *J Biol Chem* 2011; 286: 27278–27287.
- [75] Pichlmair A, Schulz O, Tan C-P, et al. Activation of MDA5 Requires Higher-Order RNA Structures Generated during Virus Infection. *Journal of Virology* 2009; 83: 10761–10769.
- [76] Loo Y-M, Fornek J, Crochet N, et al. Distinct RIG-I and MDA5 signaling by RNA viruses in innate immunity. *J Virol* 2008; 82: 335–345.
- [77] Gitlin L, Barchet W, Gilfillan S, et al. Essential role of mda-5 in type I IFN responses to polyriboinosinic:polyribocytidylic acid and encephalomyocarditis picornavirus. *Proc Natl Acad Sci USA* 2006; 103: 8459–8464.
- [78] Fischer H, Tschachler E, Eckhart L. Pangolins Lack IFIH1/MDA5, a Cytoplasmic RNA Sensor That Initiates Innate Immune Defense Upon Coronavirus Infection. *Front Immunol* 2020; 11: 939.
- [79] Fredericksen BL, Keller BC, Fornek J, et al. Establishment and Maintenance of the Innate Antiviral Response to West Nile Virus Involves both RIG-I and MDA5 Signaling through IPS-1. *Journal of Virology* 2008; 82: 609–616.
- [80] Liu G, Lu Y, Thulasi Raman SN, et al. Nuclear-resident RIG-I senses viral replication inducing antiviral immunity. *Nature Communications* 2018; 9: 3199.
- [81] Pippig DA, Hellmuth JC, Cui S, et al. The regulatory domain of the RIG-I family ATPase LGP2 senses double-stranded RNA. *Nucleic Acids Res* 2009; 37: 2014–2025.
- [82] Rothenfusser S, Goutagny N, DiPerna G, et al. The RNA Helicase Lgp2 Inhibits TLR-Independent Sensing of Viral Replication by Retinoic Acid-Inducible Gene-I. *The Journal of Immunology* 2005; 175: 5260–5268.
- [83] Venkataraman T, Valdes M, Elsby R, et al. Loss of DExD/H Box RNA Helicase LGP2 Manifests Disparate Antiviral Responses. *The Journal of Immunology* 2007; 178: 6444–6455.
- [84] Bruns AM, Pollpeter D, Hadizadeh N, et al. ATP Hydrolysis Enhances RNA Recognition and Antiviral Signal Transduction by the Innate Immune Sensor, Laboratory of Genetics and Physiology 2 (LGP2). *J Biol Chem* 2013; 288: 938–946.
- [85] Parisien J-P, Bamming D, Komuro A, et al. A Shared Interface Mediates Paramyxovirus Interference with Antiviral RNA Helicases MDA5 and LGP2. *Journal of Virology* 2009; 83: 7252–7260.

- [86] Rodriguez KR, Horvath CM. Paramyxovirus V protein interaction with the antiviral sensor LGP2 disrupts MDA5 signaling enhancement but is not relevant to LGP2-mediated RLR signaling inhibition. *J Virol* 2014; 88: 8180–8188.
- [87] Sanchez David RY, Combredet C, Najburg V, et al. LGP2 binds to PACT to regulate RIG-I– and MDA5-mediated antiviral responses. *Sci Signal* 2019; 12: eaar3993.
- [88] Schuberth-Wagner C, Ludwig J, Bruder AK, et al. A Conserved Histidine in the RNA Sensor RIG-I Controls Immune Tolerance to N1-2'O-Methylated Self RNA. *Immunity* 2015; 43: 41–51.
- [89] Jang M-A, Kim EK, Now H, et al. Mutations in DDX58, which encodes RIG-I, cause atypical Singleton-Merten syndrome. *Am J Hum Genet* 2015; 96: 266–274.
- [90] Rutsch F, MacDougall M, Lu C, et al. A specific IFIH1 gain-of-function mutation causes Singleton-Merten syndrome. *Am J Hum Genet* 2015; 96: 275–282.
- [91] Oda H, Nakagawa K, Abe J, et al. Aicardi-Goutières syndrome is caused by IFIH1 mutations. *Am J Hum Genet* 2014; 95: 121–125.
- [92] Rice GI, Del Toro Duany Y, Jenkinson EM, et al. Gain-of-function mutations in IFIH1 cause a spectrum of human disease phenotypes associated with upregulated type I interferon signaling. *Nat Genet* 2014; 46: 503–509.
- [93] Munroe ME, Pezant N, Brown MA, et al. Association of IFIH1 and pro-inflammatory mediators: Potential new clues in SLE-associated pathogenesis. *PLoS ONE* 2017; 12: e0171193.
- [94] Wang C, Ahlford A, Laxman N, et al. Contribution of IKBKE and IFIH1 gene variants to SLE susceptibility. *Genes Immun* 2013; 14: 217–222.
- [95] Elion DL, Jacobson ME, Hicks DJ, et al. Therapeutically Active RIG-I Agonist Induces Immunogenic Tumor Cell Killing in Breast Cancers. *Cancer Res* 2018; 78: 6183–6195.
- [96] Heidegger S, Wintges A, Stritzke F, et al. RIG-I activation is critical for responsiveness to checkpoint blockade. *Science Immunology*; 4. Epub ahead of print 13 September 2019. DOI: 10.1126/sciimmunol.aau8943.
- [97] Nabet BY, Qiu Y, Shabason JE, et al. Exosome RNA Unshielding Couples Stromal Activation to Pattern Recognition Receptor Signaling in Cancer. *Cell* 2017; 170: 352-366.e13.
- [98] Wolf D, Fiegl H, Zeimet AG, et al. High RIG-I expression in ovarian cancer associates with an immune-escape signature and poor clinical outcome. *International Journal of Cancer* 2020; 146: 2007–2018.
- [99] Tabara H, Yigit E, Siomi H, et al. The dsRNA binding protein RDE-4 interacts with RDE-1, DCR-1, and a DEXH-box helicase to direct RNAi in *C. elegans*. *Cell* 2002; 109: 861–871.
- [100] Duchaine TF, Wohlschlegel JA, Kennedy S, et al. Functional proteomics reveals the biochemical niche of *C. elegans* DCR-1 in multiple small-RNA-mediated pathways. *Cell* 2006; 124: 343–354.
- [101] Guo X, Zhang R, Wang J, et al. Homologous RIG-I–like helicase proteins direct RNAi-mediated antiviral immunity in *C. elegans* by distinct mechanisms. *PNAS* 2013; 110: 16085–16090.
- [102] Coffman SR, Lu J, Guo X, et al. *Caenorhabditis elegans* RIG-I Homolog Mediates Antiviral RNA Interference Downstream of Dicer-Dependent Biogenesis of Viral Small Interfering RNAs. *mBio* 2017; 8: e00264-17, /mbio/8/2/e00264-17.atom.
- [103] Taschuk F, Cherry S. DEAD-Box Helicases: Sensors, Regulators, and Effectors for Antiviral Defense. *Viruses* 2020; 12: 181.
- [104] Fujii R, Okamoto M, Aratani S, et al. A Role of RNA Helicase A in cis-Acting Transactivation Response Element-mediated Transcriptional Regulation of Human Immunodeficiency Virus Type 1. *J Biol Chem* 2001; 276: 5445–5451.
- [105] Sadler AJ, Latchoumanin O, Hawkes D, et al. An Antiviral Response Directed by PKR Phosphorylation of the RNA Helicase A. *PLOS Pathogens* 2009; 5: e1000311.
- [106] Xing L, Niu M, Kleiman L. In Vitro and In Vivo Analysis of the Interaction between RNA Helicase A and HIV-1 RNA. *Journal of Virology* 2012; 86: 13272–13280.

- [107] Lin L, Li Y, Pyo H-M, et al. Identification of RNA helicase A as a cellular factor that interacts with influenza A virus NS1 protein and its role in the virus life cycle. *J Virol* 2012; 86: 1942–1954.
- [108] Grünvogel O, Esser-Nobis K, Reustle A, et al. DDX60L Is an Interferon-Stimulated Gene Product Restricting Hepatitis C Virus Replication in Cell Culture. *J Virol* 2015; 89: 10548–10568.
- [109] Miyashita M, Oshiumi H, Matsumoto M, et al. DDX60, a DEXD/H box helicase, is a novel antiviral factor promoting RIG-I-like receptor-mediated signaling. *Mol Cell Biol* 2011; 31: 3802–3819.
- [110] Pierson TC, Diamond MS. The continued threat of emerging flaviviruses. *Nature Microbiology* 2020; 5: 796–812.
- [111] Chan YK, Gack MU. Viral evasion of intracellular DNA and RNA sensing. *Nat Rev Microbiol* 2016; 14: 360–373.
- [112] He Z, Zhu X, Wen W, et al. Dengue Virus Subverts Host Innate Immunity by Targeting Adaptor Protein MAVS. *J Virol* 2016; 90: 7219–7230.
- [113] Dalrymple NA, Cimica V, Mackow ER. Dengue Virus NS Proteins Inhibit RIG-I/MAVS Signaling by Blocking TBK1/IRF3 Phosphorylation: Dengue Virus Serotype 1 NS4A Is a Unique Interferon-Regulating Virulence Determinant. *mBio*; 6. Epub ahead of print 1 July 2015. DOI: 10.1128/mBio.00553-15.
- [114] Chang DC, Hoang LT, Mohamed Naim AN, et al. Evasion of early innate immune response by 2'-O-methylation of dengue genomic RNA. *Virology* 2016; 499: 259–266.
- [115] Pijlman GP, Funk A, Kondratieva N, et al. A Highly Structured, Nuclease-Resistant, Noncoding RNA Produced by Flaviviruses Is Required for Pathogenicity. *Cell Host & Microbe* 2008; 4: 579–591.
- [116] Manokaran G, Finol E, Wang C, et al. Dengue subgenomic RNA binds TRIM25 to inhibit interferon expression for epidemiological fitness. *Science* 2015; 350: 217–221.
- [117] Sánchez-Vargas I, Scott JC, Poole-Smith BK, et al. Dengue Virus Type 2 Infections of *Aedes aegypti* Are Modulated by the Mosquito's RNA Interference Pathway. *PLoS Pathog* 2009; 5: e1000299.
- [118] Cirimotich CM, Scott JC, Phillips AT, et al. Suppression of RNA interference increases alphavirus replication and virus-associated mortality in *Aedes aegypti* mosquitoes. *BMC Microbiol* 2009; 9: 49.
- [119] Schnettler E, Sterken MG, Leung JY, et al. Noncoding Flavivirus RNA Displays RNA Interference Suppressor Activity in Insect and Mammalian Cells. *Journal of Virology* 2012; 86: 13486–13500.
- [120] Moon SL, Dodd BJT, Brackney DE, et al. Flavivirus sfRNA suppresses antiviral RNA interference in cultured cells and mosquitoes and directly interacts with the RNAi machinery. *Virology* 2015; 485: 322–329.
- [121] Samuel GH, Wiley MR, Badawi A, et al. Yellow fever virus capsid protein is a potent suppressor of RNA silencing that binds double-stranded RNA. *Proc Natl Acad Sci USA* 2016; 113: 13863–13868.
- [122] Göertz GP, Fros JJ, Miesen P, et al. Noncoding Subgenomic Flavivirus RNA Is Processed by the Mosquito RNA Interference Machinery and Determines West Nile Virus Transmission by *Culex pipiens* Mosquitoes. *J Virol* 2016; 90: 10145–10159.
- [123] Kakumani PK, Ponia SS, S RK, et al. Role of RNA Interference (RNAi) in Dengue Virus Replication and Identification of NS4B as an RNAi Suppressor. *Journal of Virology* 2013; 87: 8870–8883.
- [124] Qiu Y, Xu Y-P, Wang M, et al. Flavivirus induces and antagonizes antiviral RNA interference in both mammals and mosquitoes. *Sci Adv* 2020; 6: eaax7989.
- [125] Mathur K, Anand A, Dubey SK, et al. Analysis of chikungunya virus proteins reveals that non-structural proteins nsP2 and nsP3 exhibit RNA interference (RNAi) suppressor activity. *Sci Rep* 2016; 6: 38065.
- [126] Chatel-Chaix L, Cortese M, Romero-Brey I, et al. Dengue Virus Perturbs Mitochondrial Morphodynamics to Dampen Innate Immune Responses. *Cell Host Microbe* 2016; 20: 342–356.

- [127] Züst R, Cervantes-Barragan L, Habjan M, et al. Ribose 2'-O-methylation provides a molecular signature for the distinction of self and non-self mRNA dependent on the RNA sensor Mda5. *Nat Immunol* 2011; 12: 137–143.
- [128] Gokhale NS, Horner SM. RNA modifications go viral. *PLoS Pathog* 2017; 13: e1006188.
- [129] Gonzales-van Horn SR, Sarnow P. Making the Mark: The Role of Adenosine Modifications in the Life Cycle of RNA Viruses. *Cell Host Microbe* 2017; 21: 661–669.
- [130] Lichinchi G, Zhao BS, Wu Y, et al. Dynamics of Human and Viral RNA Methylation during Zika Virus Infection. *Cell Host Microbe* 2016; 20: 666–673.
- [131] Cong P, Shuman S. Mutational analysis of mRNA capping enzyme identifies amino acids involved in GTP binding, enzyme-guanylate formation, and GMP transfer to RNA. *Mol Cell Biol* 1995; 15: 6222–6231.
- [132] Furuichi Y, Muthukrishnan S, Shatkin AJ. 5'-Terminal m-7G(5')ppp(5')G-m-p in vivo: identification in reovirus genome RNA. *Proc Natl Acad Sci USA* 1975; 72: 742–745.
- [133] Ahola T, Kääriäinen L. Reaction in alphavirus mRNA capping: formation of a covalent complex of nonstructural protein nsP1 with 7-methyl-GMP. *PNAS* 1995; 92: 507–511.
- [134] Ogino T, Banerjee AK. Unconventional Mechanism of mRNA Capping by the RNA-Dependent RNA Polymerase of Vesicular Stomatitis Virus. *Molecular Cell* 2007; 25: 85–97.
- [135] Dias A, Bouvier D, Crépin T, et al. The cap-snatching endonuclease of influenza virus polymerase resides in the PA subunit. *Nature* 2009; 458: 914–918.
- [136] Reich S, Guilligay D, Pflug A, et al. Structural insight into cap-snatching and RNA synthesis by influenza polymerase. *Nature* 2014; 516: 361–366.
- [137] Yuan P, Bartlam M, Lou Z, et al. Crystal structure of an avian influenza polymerase PA(N) reveals an endonuclease active site. *Nature* 2009; 458: 909–913.
- [138] Tolonen N, Doglio L, Schleich S, et al. Vaccinia virus DNA replication occurs in endoplasmic reticulum-enclosed cytoplasmic mini-nuclei. *Mol Biol Cell* 2001; 12: 2031–2046.
- [139] Suhy DA, Giddings TH, Kirkegaard K. Remodeling the Endoplasmic Reticulum by Poliovirus Infection and by Individual Viral Proteins: an Autophagy-Like Origin for Virus-Induced Vesicles. *J Virol* 2000; 74: 8953–8965.
- [140] Nikolic J, Le Bars R, Lama Z, et al. Negri bodies are viral factories with properties of liquid organelles. *Nat Commun*; 8. Epub ahead of print 5 July 2017. DOI: 10.1038/s41467-017-00102-9.
- [141] Bale S, Julien J-P, Bornholdt ZA, et al. Marburg Virus VP35 Can Both Fully Coat the Backbone and Cap the Ends of dsRNA for Interferon Antagonism. *PLoS Pathog* 2012; 8: e1002916.
- [142] Cárdenas WB, Loo Y-M, Gale M, et al. Ebola Virus VP35 Protein Binds Double-Stranded RNA and Inhibits Alpha/Beta Interferon Production Induced by RIG-I Signaling. *JVI* 2006; 80: 5168–5178.
- [143] Turkington HL, Juozapaitis M, Kerry PS, et al. Novel Bat Influenza Virus NS1 Proteins Bind Double-Stranded RNA and Antagonize Host Innate Immunity. *J Virol* 2015; 89: 10696–10701.
- [144] Green TJ. Structure of the Vesicular Stomatitis Virus Nucleoprotein-RNA Complex. *Science* 2006; 313: 357–360.
- [145] Chan YK, Gack MU. A phosphomimetic-based mechanism of dengue virus to antagonize innate immunity. *Nat Immunol* 2016; 17: 523–530.
- [146] Kakumani PK, Ponia SS, S RK, et al. Role of RNA Interference (RNAi) in Dengue Virus Replication and Identification of NS4B as an RNAi Suppressor. *Journal of Virology* 2013; 87: 8870–8883.
- [147] Qiu Y, Xu Y-P, Wang M, et al. Flavivirus induces and antagonizes antiviral RNA interference in both mammals and mosquitoes. *Sci Adv* 2020; 6: eaax7989.

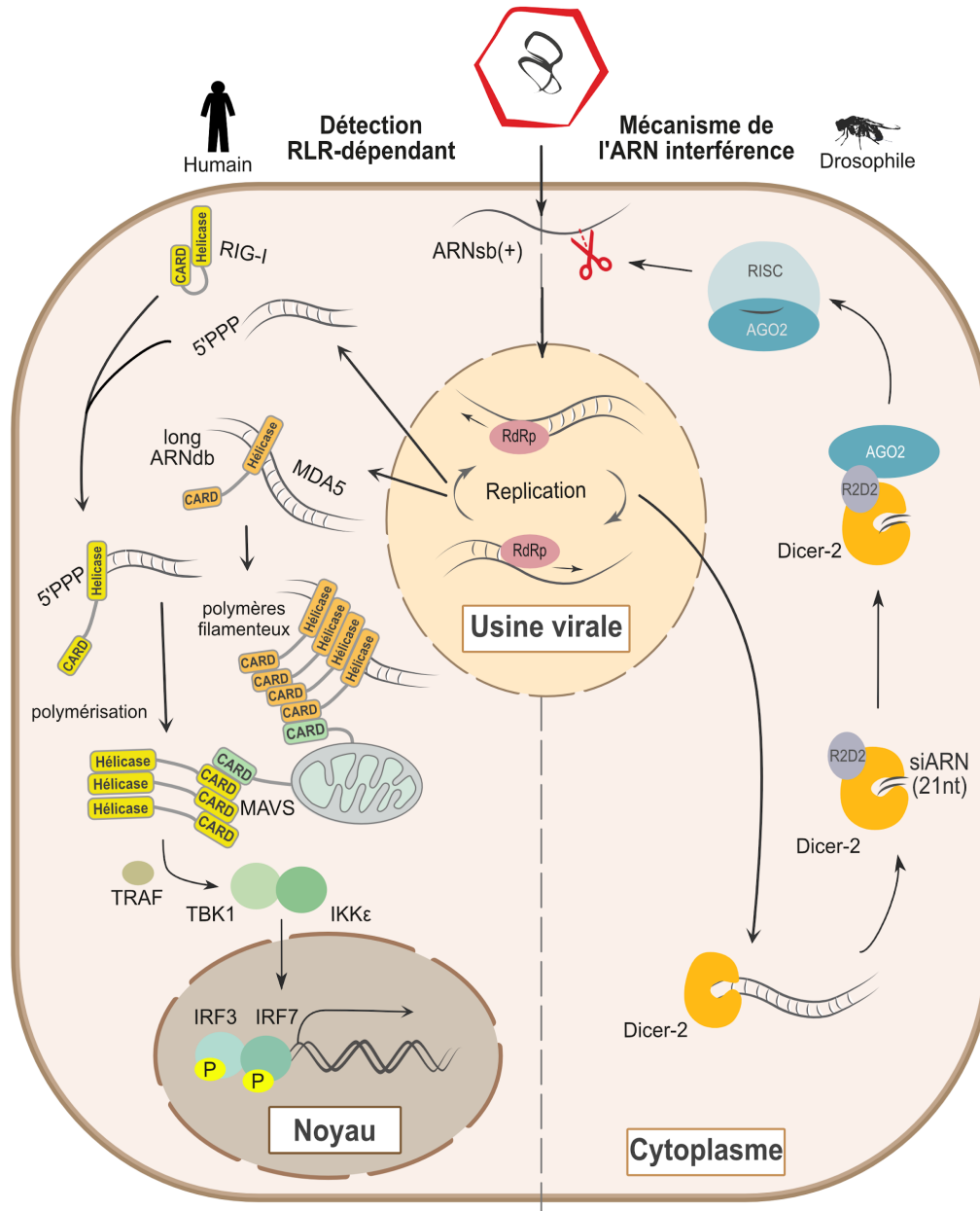
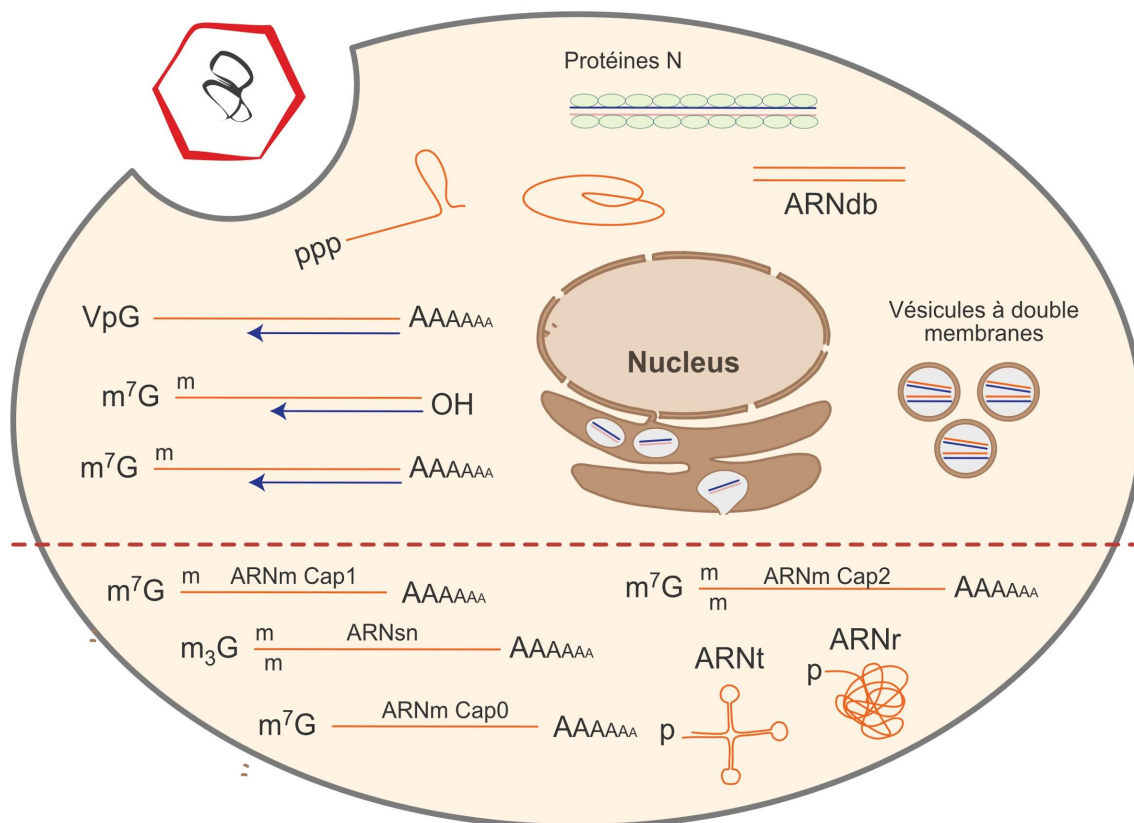


Figure 1 : Exemple de deux voies antivirales contre un virus ssRNA(+) : la voie de signalisation RLR humaine versus l'ARN interférence de la drosophile. Une fois qu'un virus à ARNs(+), pénètre dans la cellule, son génome et son anti-génome sont synthétisés par l'ARN-polymérase ARN-dépendante (RdRp), ce qui entraîne la présence d'un intermédiaire ARNdb, le ligand ARN nécessaire à la fois pour la voie RLR et la voie ARNi. Détection RLR-dépendante (à gauche) : Une fois que Retinoid acid-inducible gene I (RIG-I) et Melanoma Differentiation-Associated protein 5 (MDA-5) se lient à leurs ligands ARN, RIG-I subit un changement conformationnel qui libère ses domaines CARD pour les interactions, tandis que la MDA-5 forme des oligomères filamenteux sensibles à l'ATP. Ils sont ensuite recrutés aux mitochondries, où ils interagissent avec la protéine de signalisation antivirale mitochondriale (MAVS). Il en résulte la formation d'agrégats, qui servent de plateforme de signalisation pour le recrutement et l'activation des protéines TRAF. Les protéines TRAF permettent l'activation de TANK-binding kinase 1 (TBK1) et IκB kinase-ε (IKKε), qui à leur tour activent IRF3 et IRF7. Ces facteurs de transcription, ainsi que le facteur nucléaire-κB, se déplacent ensuite vers le noyau, où ils induisent l'expression des interférons α et β. Mécanisme d'interférence de l'ARN (à droite) : Une fois que le ligand est reconnu par l'endonucléase Dicer-2, il est utilisé par l'endonucléase afin de produire des duplex de petits ARN interférents (siARN). Ceux-ci sont ensuite chargés sur la protéine Argonaute 2 (AGO2) par Dicer-2 et son cofacteur R2D2, afin de former le RNA-Induced Silencing Complex (RISC). Lors de la formation du complexe RISC, l'un des deux brins composant le duplex siARN sera éliminé tandis que l'autre servira de guide pour conduire RISC vers l'ARN viral complémentaire. Une fois que le RISC aura atteint sa cible, il sera clivé par une protéine Argonaute, puis dégradé, ce qui inhibera la réplication virale.

Caractéristiques des ARN viraux



Caractéristiques des ARN cellulaires

Figure 2 : Caractéristiques de l'ARN viral par rapport à l'ARN cellulaire. Comme les molécules d'ARN naissantes sont synthétisées à l'aide de nucléotides triphosphates, l'extrémité 5' de la molécule d'ARN contient un triphosphate libre. Cependant, les ARNm endogènes sont synthétisés dans le noyau et subissent ensuite un traitement supplémentaire afin d'éliminer cette extrémité 5' triphosphate libre comme des modifications de base, par exemple un coiffage 5' co-transcriptionnel avant leur exportation dans le cytosol. La voie de coiffage, que l'on trouve chez toutes les eucaryotes, peut contenir différents niveaux de méthylation (Cap0, Cap1 et Cap2) et peut même être hyperméthylée comme la coiffe de la 2,2,7-triméthylguanosine (m3G). Certaines espèces d'ARN cellulaires contiennent différentes extrémités 5', comme les ARNt et les ARNr, qui possèdent un monophosphate. Au contraire, la synthèse d'ARN dans le cytosol à l'aide d'une ARN-polymérase ARN-dépendante (RdRp), telle qu'elle est souvent exécutée par la plupart des virus à ARN, donne lieu à la présence d'une extrémité 5' PPP. Pour dissimuler cette extrémité, certains virus produisent leur propre coiffe en utilisant des protéines cellulaires ou virales, ou bien utilisent un mécanisme de vol de coiffe pour voler la coiffe des ARNm cellulaires. D'autres possèdent une protéine liée de manière covalente comme VpG à leur extrémité 5'. De plus, certains virus protègent leur ARNdb à l'intérieur d'usines à virus (vésicules à double membrane ou par réarrangement de la membrane des organites cellulaires), ou en recouvrant l'ARNdb de protéines de liaison à l'ARNdb comme les protéines N du VSV.

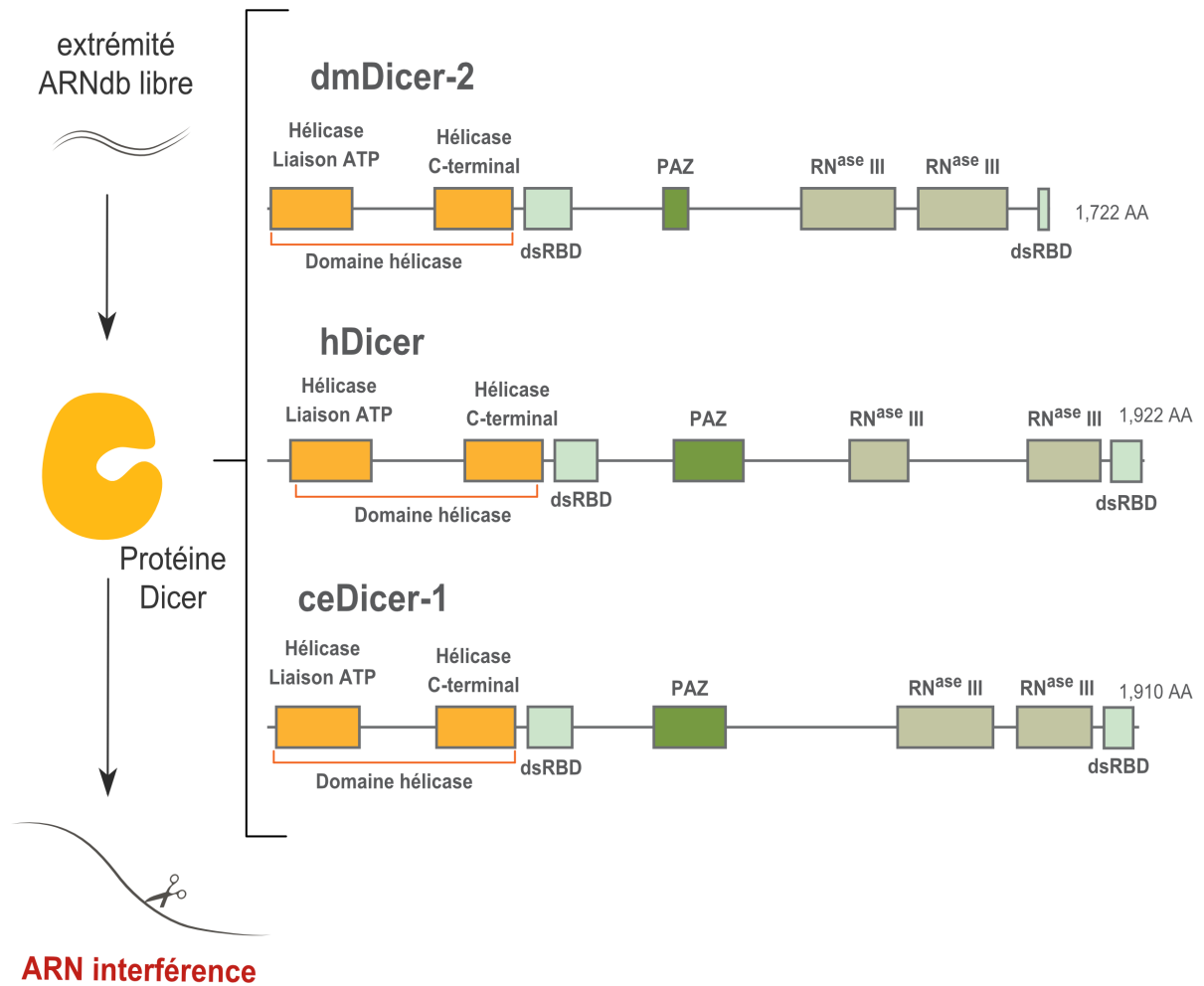


Figure 3 : Structures des protéines Dicer à travers les espèces. Les protéines Dicer sont des endonucléases spécifiques de l'ARNdb, membres de la famille des RN^{ase}III et de la famille des hélicases DExD-box. Ces hélicases sont caractérisées par la présence d'un motif Asp-Glu-x-Asp (DExD), et un certain nombre d'entre elles jouent un rôle dans la reconnaissance des acides nucléiques étrangers. Les protéines Dicer possèdent un domaine central atypique de liaison à l'ARNdb (dsRBD), un dsRBD C-terminal, deux domaines RN^{ase}III, un domaine hélicase et un domaine plateforme-PAZ. Le domaine hélicase de Dicer, situé à l'extrémité Nter de la protéine, n'hydrolyse pas l'ATP dans toutes les protéines de Dicer. La production de siARN à partir d'ARNdb nécessite de l'ATP dans *C. elegans* et *D. melanogaster* (uniquement pour dmDicer-2 mais pas pour dmDicer-1). Au contraire, bien que le domaine de l'hélicase soit conservé dans le Dicer humain, il n'hydrolyse pas l'ATP *in vitro*. Le domaine PAZ contient une poche de liaison au phosphate, qui reconnaît le monophosphate 5' des substrats ARNdb longs et courts et ancre l'extrémité 5' du substrat ARN.

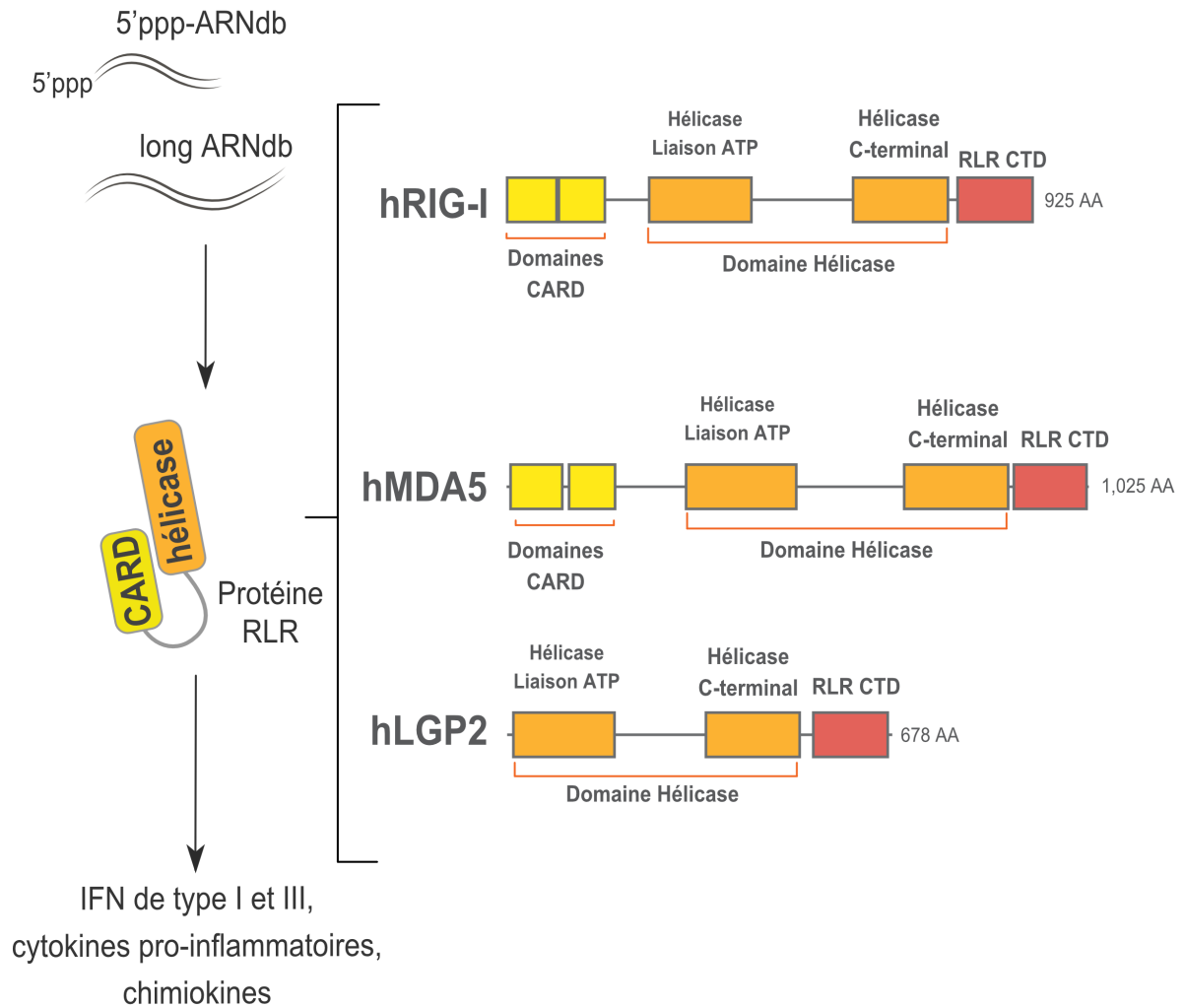


Figure 4 : Structures des différents RLR. Comme les protéines Dicer, les récepteurs RIG-like font également partie de la famille des hélicases DExD-box, et contiennent également un motif Asp-Glu-x-Asp (DExD). RIG-I, MDA-5 et LGP2 reconnaissent différents ligands. RIG-I reconnaît le 5' triphosphate, ainsi que le 5' diphosphate, s'il possède une portion d'ARN entièrement apparié à son extrémité 5', comme c'est le cas pour de nombreux virus à ARN à brin négatif. Par opposition, MDA-5 reconnaît des longs ARNdb (jusqu'à 2kb). Comme MDA-5, LGP2 se lie à l'ARNdb indépendamment de l'extrémité 5'PPP. Cependant, LGP2 n'a pas de domaine CARD et ne peut donc pas induire de cascade de signalisation. En dehors de cela, le reste de la structure des trois protéines est similaire, elles contiennent toutes un domaine hélicase et un domaine de régulation C-terminal (CTD).

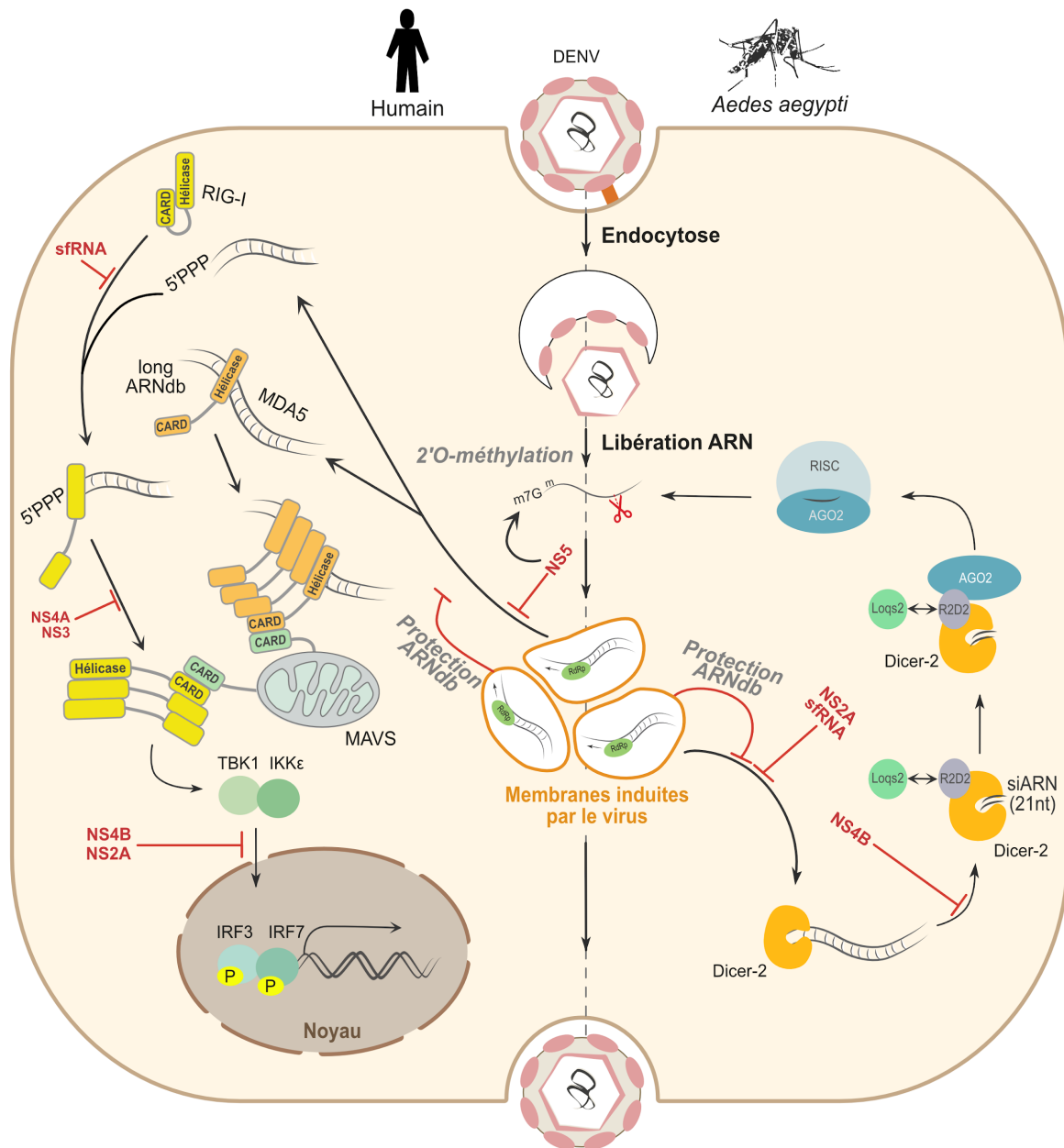


Figure 5 : Réponse antivirale du virus de la dengue et suppresseurs viraux. Exemple de DENV, un arbovirus doté de mécanismes d'évasion pour ses hôtes humains et moustiques. DENV se réplique à l'intérieur de membranes induites par le virus [126], protégeant ainsi son ARNdb de la reconnaissance des RLR chez l'Homme et de Dicer-2 chez *Aedes aegypti*. Chez les mammifères, plusieurs protéines du DENV agissent à différents niveaux de la réponse immunitaire IFN. Le sfRNA empêche l'activation de RIG-I en se liant à la protéine TRIM25, qui ubiquitine normalement RIG-I afin de l'activer [116]. NS3 empêche la translocation de RIG-I vers les mitochondries en se liant à la protéine responsable de cette translocation, 14-3-3 ϵ [145], et NS4A inhibe en outre la liaison entre RIG-I et MAVS en interagissant avec MAVS [112]. De plus, NS4B et NS2A empêchent la phosphorylation de TBK1 et la phosphorylation ultérieure de IRF3 [113]. Enfin, NS5 permet d'imiter l'ARNm cellulaire en induisant une 2'O-méthylation sur l'ARN viral [114], une modification qui inhibe la reconnaissance par RIG-I. Chez les insectes, il a été démontré que trois de ces facteurs viraux, le sfRNA, NS2A et NS4B, sont des VSR, bien qu'ils agissent par des mécanismes distincts de ceux décrits pour les mammifères juste au-dessus. Un modèle dans lequel le sfRNA hautement exprimé agit comme un leurre pour empêcher la machinerie de l'ARNi de traiter l'ARNg viral moins abondant a été décrit [119]. De plus, il a été démontré que NS2A et NS4B séquestrent l'ARNdb et empêchent sa liaison et son traitement par Dicer-2 [146, 147].