

# Dengue virus diverts the mosquito phospholipid metabolism for replication

## Le virus de la dengue détourne le métabolisme des phospholipides du moustique pour sa réplication

### Résumé de la thèse en anglais

More than half of the world population is at risk of dengue virus (DENV) infection because of the global distribution of its mosquito vectors. There is neither effective vaccine nor therapeutics. The only available strategy relies on insecticides, against which mosquitoes are developing resistance. Viruses utilize the host metabolome for replication and dissemination. This is particularly true for envelope viruses like DENV that relies on host lipid membranes to complete their life-cycle. To reach an optimal metabolic environment, viruses subvert the host metabolome. Understanding DENV-mosquito metabolic interactions will reveal novel strategies to stop DENV transmission. Here, we characterized how DENV hijacks the *Aedes aegypti* mosquito lipidome to identify targets for novel transmission-blocking interventions. To describe metabolic changes throughout the mosquito DENV cycle, we deployed a Liquid chromatography–high resolution mass spectrometry (LC-HRMS) workflow at different stages of vector infection. We revealed a major phospholipid reconfiguration throughout the DENV mosquito cycle, in cells, midguts, and whole mosquitoes. To decipher how DENV reconfigures phospholipids, we phylogenetically characterized acylglycerolphosphate acyltransferase (AGPAT) enzyme isoforms and identified those (i.e., AGPAT1) that catalyze a central rate-limiting step in phospholipid biogenesis. We found that DENV infection decreased AGPAT1 expression, which depletion enhances infection by maintaining high aminophospholipid (aminoPL) concentrations, especially phosphatidylcholine (PC) and phosphatidylethanolamine (PE), during DENV mosquito cycle. By demonstrating that DENV-mediated *AGPAT1* downregulation provides a proviral environment, these results reveal the first metabolic host factor in mosquitoes and emphasize the role of aminophospholipids in DENV cellular cycle.

We then undertook to precise how DENV influences aminoPL biosynthesis and what stage of DENV cellular cycle requires aminoPL reconfiguration. *De novo* biosynthesis of PC and PE is known as the Kennedy pathway, where a diacylglycerol (DAG) incorporates either a choline or an ethanolamine group. AminoPL remodeling by deacylation/reacylation then ensures membrane dynamism that participates in membrane rearrangements. Using isotopic labelling through ethanolamine or choline supplementation, we showed that DENV modulates PC and PE biosynthesis by interacting with membrane remodeling. Further supporting the importance of the Kennedy pathway in DENV infection, ethanolamine supplementation reduced virus titer in mosquito cells by altering composition of specific PC and PE. While ethanolamine-mediated aminoPL disruption did not alter attachment, internalization or translation, it reduced replication and resulted in a lower ratio of infectious particles, likely because of deficient replication. These results strongly support the importance of aminoPLs in DENV infection of mosquitoes and reveal the importance of aminoPL composition in replication. PC and PE are the most

abundant phospholipid species in eukaryotic cells and contribute to cell membrane architecture, especially in the endoplasmic reticulum, where replication takes place. Disruption of aminoPL reconfiguration may represent a novel strategy to interfere with DENV subversion of mosquito metabolome.

## Résumé de la thèse en français

Plus de la moitié de la population mondiale est exposée au risque d'infection par le virus de la dengue (DENV) en raison de la distribution mondiale de ses moustiques vecteurs. Il n'existe ni vaccin ni traitement efficace. La seule stratégie disponible repose sur les insecticides, contre lesquels les moustiques développent une résistance. Les virus utilisent le métabolome de l'hôte pour la réplication et la dissémination. C'est particulièrement vrai pour les virus enveloppés comme le DENV qui dépend des membranes lipidiques de l'hôte pour compléter son cycle de vie. Pour atteindre un environnement métabolique optimal, les virus perturbent le métabolome de l'hôte. La compréhension de ces altérations chez les moustiques vecteurs pourrait révéler de nouvelles stratégies pour bloquer la transmission du DENV. Ici, nous avons caractérisé comment le DENV détourne le lipidome du moustique *Aedes aegypti*. Pour décrire les changements métaboliques tout au long du cycle du DENV chez le moustique, nous avons développé une méthode de chromatographie liquide et de spectrométrie de masse à haute résolution (LC-HRMS) à différents stades de l'infection chez le vecteur. Nous avons révélé une reconfiguration majeure des phospholipides tout au long du cycle du DENV chez le moustique, dans les cellules, l'intestin moyen et le moustique entier. Pour déchiffrer la façon dont le virus reconfigure les phospholipides, nous avons caractérisé phylogénétiquement les isoformes de l'enzyme acylglycerol-phosphate acyltransférase (AGPAT) et identifié celles qui catalysent une étape limitante dans la biogenèse des phospholipides. Nous avons constaté que l'infection par le DENV diminuait l'expression de AGPAT1, dont la déplétion renforce l'infection en maintenant des concentrations élevées d'aminophospholipides (aminoPL), en particulier la phosphatidylcholine (PC) et la phosphatidyléthanolamine (PE), pendant le cycle du DENV chez le moustique. En démontrant que la sous-régulation de AGPAT1, causé par le virus, fournit un environnement proviral, nous révélons le premier facteur métabolique hôte chez les moustiques et soulignent le rôle des aminophospholipides dans le cycle cellulaire viral. Nous avons ensuite cherché à confirmer que le virus influence la biosynthèse des aminoPL et déterminer à quel stade du cycle viral la reconfiguration des aminoPL est nécessaire. La biosynthèse de novo de PC et de PE est connue sous le nom de voie de Kennedy, où un diacylglycérol (DAG) incorpore soit un groupe choline, soit un groupe éthanolamine. Le remodelage des AminoPL par déacylation/réacylation assure ensuite un dynamisme des membranes qui participe aux réarrangements membranaires. En utilisant un marquage isotopique avec une supplémentation en éthanolamine ou en choline, nous avons montré que le virus module la biosynthèse des PC et des PE en interagissant avec le remodelage membranaire. Soulignant l'importance de la voie de Kennedy dans l'infection par le DENV, la supplémentation en éthanolamine a réduit le titre du virus dans les cellules de moustiques en modifiant la composition de PC et PE. Bien que la supplémentation en éthanolamine n'ait pas modifié l'attachement, l'internalisation ou la traduction, elle réduit la réplication et entraîne un ratio plus faible de particules infectieuses, probablement en raison d'une réplication déficiente. Ces résultats confirment l'importance des aminoPL dans l'infection des moustiques par le DENV et révèlent l'importance de la composition des aminoPL dans la réplication. Les PC et PE sont les espèces de phospholipides les plus abondantes dans les cellules eucaryotes et contribuent à l'architecture de la membrane cellulaire, en particulier dans le réticulum endoplasmique, où la réplication a lieu. L'inhibition de la reconfiguration des aminoPL par la

supplémentation en éthanolamine pourrait représenter une nouvelle stratégie pour interférer avec la perturbation du métabolome des moustiques par le virus de la dengue.

## Résumé de thèse vulgarisé pour le grand public en anglais

Dengue is endemic in tropical and subtropical regions, and has now encroached onto temperate regions because of the geographic expansion of its vector, *Aedes aegypti*. In the absence of effective treatment and vaccine, the only intervention is vector mosquito containment. Here, we explore the changes induced by dengue virus (DENV) in mosquito metabolite content, to uncover targets for blocking transmission. DENV relies on host metabolism to proliferate, particularly the membrane lipids that compose the architecture of the host cell. We described metabolic changes incurred by DENV throughout the mosquito cycle. Membrane lipids, called phospholipids, were highly reconfigured through reduction of an enzyme involved in their biogenesis to produce a pro-viral environment. Furthermore, we showed that the production chain of the two main phospholipid species is altered by DENV to promote viral replication. Our work comprehensively describes metabolic changes associated with DENV infection, reveal how DENV subdues the host membrane, emphasize the importance of phospholipids and identify their role in replication in mosquitoes.

## Résumé de thèse vulgarisé pour le grand public en français

La dengue est endémique dans les régions tropicales, et empiète désormais sur les régions tempérées en raison de l'expansion géographique de son vecteur, *Aedes aegypti*. En l'absence de traitement et de vaccin efficaces, le confinement des moustiques est le seul moyen de contrôle. Ici, nous explorons les changements induits par le virus de la dengue au niveau du métabolisme des moustiques tout au long de leur cycle de vie, afin de découvrir des cibles pour bloquer la transmission. Le virus s'appuie sur le métabolisme de l'hôte pour proliférer, en particulier les lipides membranaires qui composent l'architecture de la cellule hôte. Les lipides membranaires, appelés phospholipides, sont fortement reconfigurés, à travers la réduction d'une enzyme impliquée dans leur biogenèse pour produire un environnement pro-viral. Nous avons montré que la chaîne de production des deux principales espèces de phospholipides est modifiée par le virus pour favoriser sa réplication. Nos travaux décrivent les changements métaboliques membranaires causés par le virus de la dengue et identifient leur rôle dans la réplication chez les moustiques.