

Partie 2 : Expression et réplication du génome viral (2024)

Cette étape du cycle comporte l'expression des gènes viraux et la réplication du génome ainsi que la synthèse des protéines virales. Pour cela, le virus doit présenter à la cellule l'ARNm viral qu'il va lui faire traduire pour synthétiser ses protéines. Les stratégies de réplication sont très variées selon les virus mais dépendent essentiellement de la nature du génome viral ADN ou ARN.

Que doit faire le virus pour se multiplier ?

Transcrire. Les virus à ADN dont le génome pénètre dans le noyau (comme les Herpesvirus ou les Adénovirus) peuvent donc utiliser les enzymes cellulaires pour leur transcription et leur réplication (ARN polymérase ADN-dépendante cellulaire). En revanche, les autres virus qui se multiplient dans le cytoplasme doivent avoir leurs propres enzymes pour synthétiser les ARNm car l'ARN polymérase II est nucléaire. Les virus à ARN de polarité positive n'ont pas besoin immédiatement d'une ARN polymérase.

Traduire. Les protéines virales se divisent en gros en protéines structurales et non structurales. Les protéines structurales font partie de la particule virale (ou virion). Ce sont les protéines de capsid, d'enveloppe mais aussi certaines enzymes qui seront présentes dans le virion. Les protéines non-structurales sont des protéines présentes dans la cellule infectée mais absentes des particules virales. Il s'agit d'enzymes, de protéines régulatrices du virus qui peuvent notamment contrôler la réponse immunitaire et du métabolisme cellulaire.

Répliquer son génome. D'autre part, le virus doit trouver un moyen pour répliquer son génome plus rapidement que la cellule. Pour cela, il aura souvent sa propre polymérase virale. Il va inhiber la synthèse ou la traduction des ARNm cellulaires ou encore les 2.

Contraintes imposées par la cellule

- le génome viral doit apporter la totalité de l'information nécessaire à la synthèse des composés viraux. Or le génome est en général très petit et le virus devra optimiser son expression génique.
- la synthèse est entièrement réalisée par la machinerie traductionnelle cellulaire, donc l'information virale doit être conforme à la traduction chez les eucaryotes

Présentation des ARNm viraux

La cellule eucaryote ne reconnaît que les ARNm monocistroniques (un gène correspond à un ARNm) Il existe donc plusieurs stratégies. Soit le virus possède des ARNm monocistroniques qui seront reconnus par la machinerie cellulaire, afin d'être traduits en protéines virales.

Soit le virus exprime un ARNm polycistronique, qui peut être traduit globalement en une seule protéine de grande taille. Cette protéine contient en fait toutes les protéines du virus et après différents clivages par des protéases virales et/ou cellulaires, on obtiendra toutes les protéines du virus, structurales et non-structurales. Une autre possibilité, le virus peut avoir recours à des épissages alternatifs qui permettront la formation de plusieurs ARNm à partir d'un précurseur.

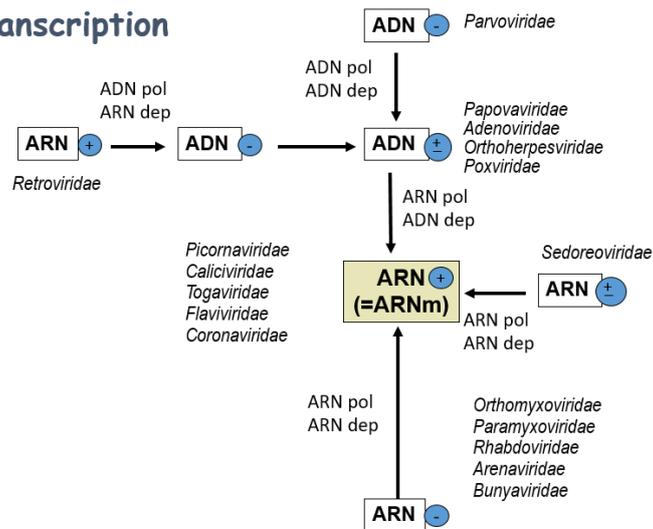
Détournement de la machinerie cellulaire

Le but final du virus va être de mettre la cellule au service de sa propre multiplication. Pour cela, il va mettre au repos les synthèses cellulaires pour favoriser les siennes. Autre avantage, parmi ces synthèses on va trouver des protéines de réponse antivirale, défavorable au virus, qu'il a tout intérêt à réprimer.

Ainsi, il pourra inhiber la réplication de l'ADN (même si parfois on observera une activation pour les virus nécessitant davantage l'appareil cellulaire pour se multiplier). Il pourra inhiber la transcription des ARNm, soit en entraînant leur dégradation soit en les bloquant dans le noyau. Enfin, il pourra inhiber la traduction des ARNm, par exemple en empêchant les ribosomes de se fixer sur les ARNm. Tout cela va entraîner une synthèse préférentielle des protéines virales par la cellule.

Stratégies de transcription

Stratégies de transcription



On a vu qu'il existe une grande diversité des génomes viraux. Comment à partir de ces différents génomes, on peut fabriquer des ARNm ? Le cas le plus simple correspond à des virus à ARN de polarité positive comme les *Picornaviridae* ou les *Coronaviridae*, dont le génome correspond directement à un ARNm. Les virus à ARN de polarité négative comme les *Orthomyxoviridae*, doivent transcrire leur génome en ARNm. Les virus à ARN double brin ne peuvent pas utiliser le brin positif comme ARNm car il est imbriqué dans le brin négatif et donc non disponible. Ils devront donc transcrire un ARNm. Il s'agit uniquement de la famille des *Sedoreoviridae*.

Les virus à ADN double brin fabriqueront un ARNm grâce à l'ARN pol II cellulaire. Les *Parvoviridae*, dont le génome est ADN simple brin, doivent tout d'abord fabriquer un ADN double brin puis le transcrire en ARNm.

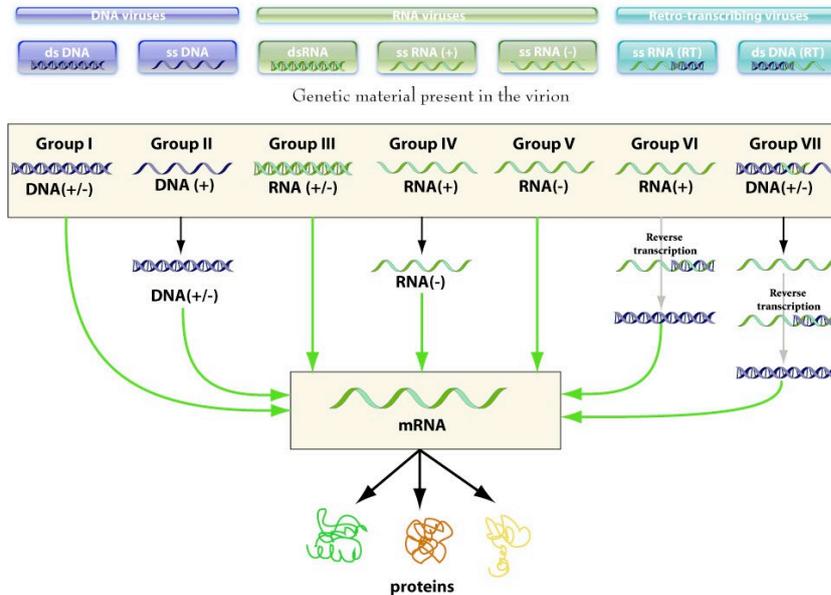
Il existe une famille de virus à ARN de polarité positive, les *Retroviridae*, qui vont tout d'abord fabriquer un ADN double brin complémentaire de leur génome, qui va s'intégrer dans le génome cellulaire. A partir de là, on retrouve une transcription par la machinerie cellulaire. Ils ne pourront pas utiliser directement leur génome comme ARNm.

Pour permettre ces différentes synthèses, différents enzymes seront nécessaires, soit des ARN polymérases soit des ADN polymérases. Ces enzymes vont reconnaître soit l'ARN soit l'ADN. Par exemple, les virus à ARN de polarité négative devront synthétiser une ARN polymérase ARN dépendante.

Classification de Baltimore

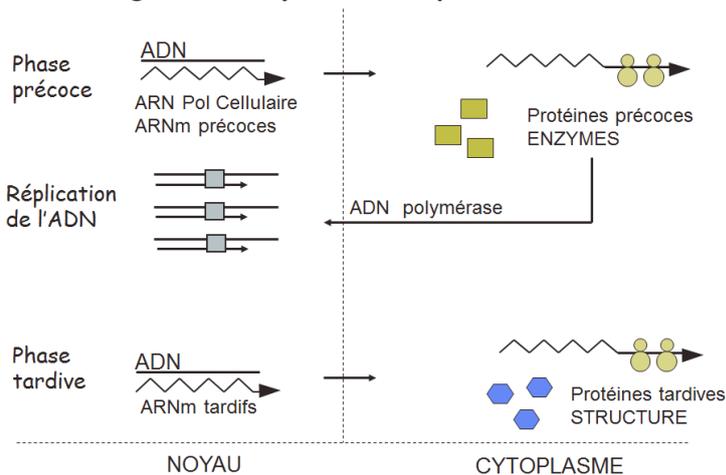
La classification de Baltimore reprend les différentes stratégies que je viens d'expliquer et classe ainsi les virus en 7 groupes en fonction de la stratégie pour parvenir à un ARNm.

Le groupe 7 correspond à des virus dont le génome est constitué d'ADN double brin mais qui passeront par une étape de rétrotranscription pour arriver à la synthèse d'ARNm. Nous reverrons cela. Il s'agit du virus de l'Hépatite B.



A. REPLICATION DES VIRUS A ADN

A.1 Schéma général du cycle de multiplication des virus à ADN.



Généralement, la multiplication des virus à ADN est intranucléaire (sauf pour les Poxvirus) et utilise les enzymes cellulaires. Elle se déroule en deux phases principales, précoce et tardive, entourant la réplication virale.

Phase précoce. Une partie de l'ADN génomique (certaines régions) est transcrit en ARNm précoces sous l'action de l'ARN pol cellulaire. Ces ARNm précoces migrent dans le cytoplasme où ils vont être traduits en protéines précoces. Ces protéines sont des protéines inhibitrices des synthèses cellulaires et des enzymes impliquées dans les synthèses virales comme l'ADN polymérase ou la thymidine kinase (phosphorylation des bases puriques et pyrimidiques).

Ensuite la **réplication** de l'ADN a lieu grâce à l'ADN polymérase (soit virale soit cellulaire), en un grand nombre de copies (réplication classique d'un ADN eucaryote, semi conservative)

Phase tardive. A partir des ADN néoformés, il va y avoir une seconde transcription d'autres régions du génome en ARNm tardifs qui vont être traduits en protéines de structures qui seront incorporés dans le virion lors de l'assemblage. Ce sont les protéines de capsid et d'enveloppe essentiellement. Ce système en deux temps va impliquer une plus grande abondance des ARNm tardifs car ils seront synthétisés à partir de l'ADN génomique après son amplification. Ceci est utile pour le virus, car il a

besoin de protéines structurales en grande quantité, pour fabriquer sa capsid et son enveloppe. En revanche, les protéines précoces qui sont des enzymes, n'ont pas besoin d'être si abondantes.

En fait chaque virus à ADN a ses propres particularités car le nombre d'enzymes virales impliquées dans la réplication dépend de la capacité de codage du génome

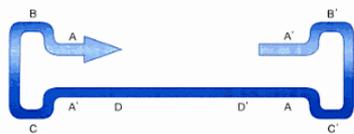
Revenons sur quelques exemples de virus à ADN.

A.2 Virus à ADN simple brin. Parvoviridae.

Les **Parvovirus** sont des virus à ADN simple brin qui ne codent que quelques protéines car leur génome est de petite taille. Du coup, ils devront utiliser les enzymes cellulaires car ils n'ont pas de gènes codant pour une polymérase par exemple.

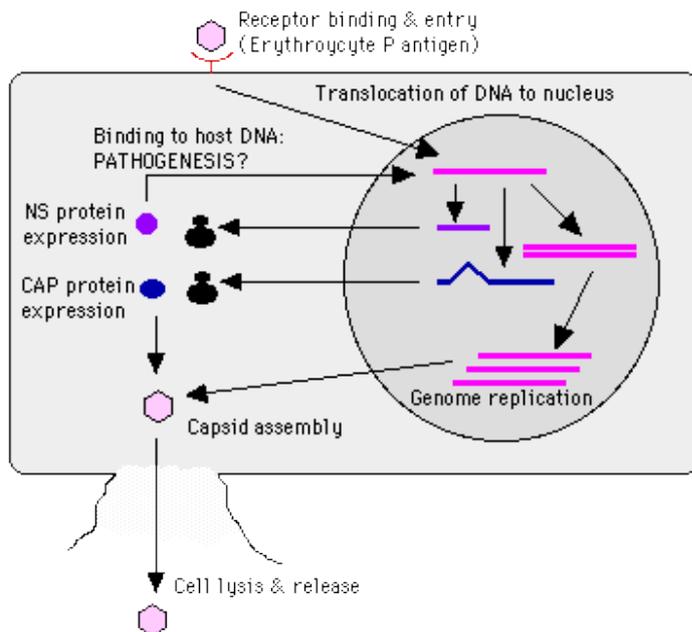
Les Parvovirus infectent les animaux, y compris l'homme. Le parvovirus B19 et le Bocavirus infectent l'homme. L'AAV (Adeno-Associated Virus) est utilisé en thérapie génique. Leur génome est fait d'ADN simple brin d'environ 5000 bases. Comme le génome ne dirige la synthèse d'aucune enzyme, le virus utilise les enzymes cellulaires pour tous les processus biosynthétiques. L'ADN viral ne peut donc être répliqué que dans le noyau en phase S du cycle cellulaire, quand la cellule réplique elle-même son ADN.

Il faut que l'ADN polymérase copie le génome simple brin. Le génome viral forme une amorce de réplication en se repliant sur lui-même comme une épingle à cheveu, grâce à une séquence complémentaire aux deux extrémités. L'ADN polymérase reconnaît l'amorce et assure la réplication.



génomme du parvovirus

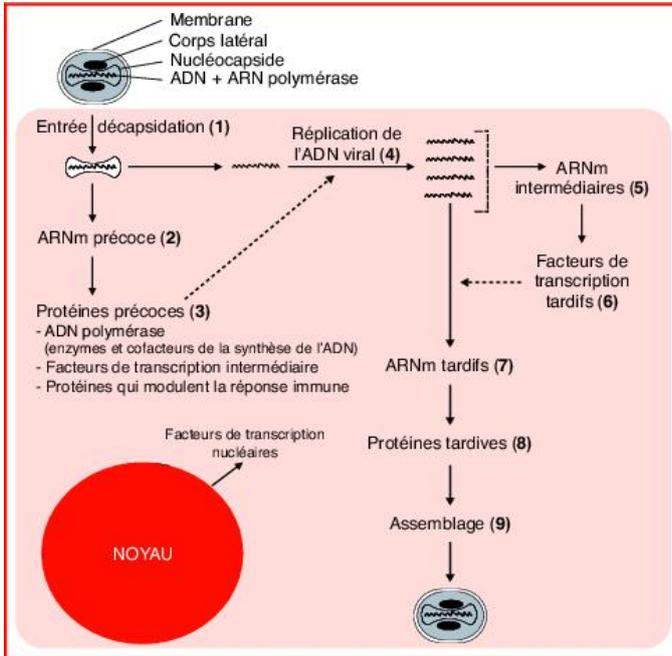
Le génome du Parvovirus B19 permet la synthèse 3 protéines. Une protéine non structurale NS1 et deux protéines de capsid VP1 et VP2. D'autres parvovirus ont deux protéines non structurales.



Cycle de multiplication du parvovirus

A.3 Virus à ADN double brin Poxvirus

Parmi les virus à ADN double brin, les **Poxvirus** sont des virus qui possèdent un génome de grande taille. Ils peuvent donc se multiplier dans le cytoplasme car ils vont exprimer des protéines nécessaires à leur réplication, comme la polymérase par exemple et un appareil enzymatique complexe. Les polymérases cellulaires sont toutes dans le noyau.



Voici un cycle simplifié des Poxvirus (Drillien, Virologie, 2003). Il s'agit de gros virus qui se répliquent uniquement dans le cytoplasme, une exception parmi les virus à ADN. Ils codent plus de 200 protéines et vont s'assembler dans une usine virale qu'on appelle le viroplaste. Pour cela, il bénéficie d'un appareil enzymatique complexe qui permet la transcription de l'ADN et le métabolisme des acides nucléiques. Ils codent aussi des protéines virales qui modulent la réponse immunitaire.

Le virus rentre par endocytose dans des vésicules tapissées.

Le nucléoïde central s'échappe de l'endosome et pénètre dans le cytoplasme. Le nucléoïde contient une ARN polymérase ADN dépendante qui synthétise les ARNm précoces. L'ADN polymérase et les autres

enzymes nécessaires à la réplication sont aussi synthétisées au début du cycle. La réplication commence environ 1h30 après l'infection. A peu près au moment où commence la réplication la transcription des ARNm tardifs commence. La plupart des protéines tardives sont des protéines de structures. Le cycle complet dure environ 24h.

Le virus de la vaccine et le mpox sont des exemples de virus de la famille des *Poxviridae*.

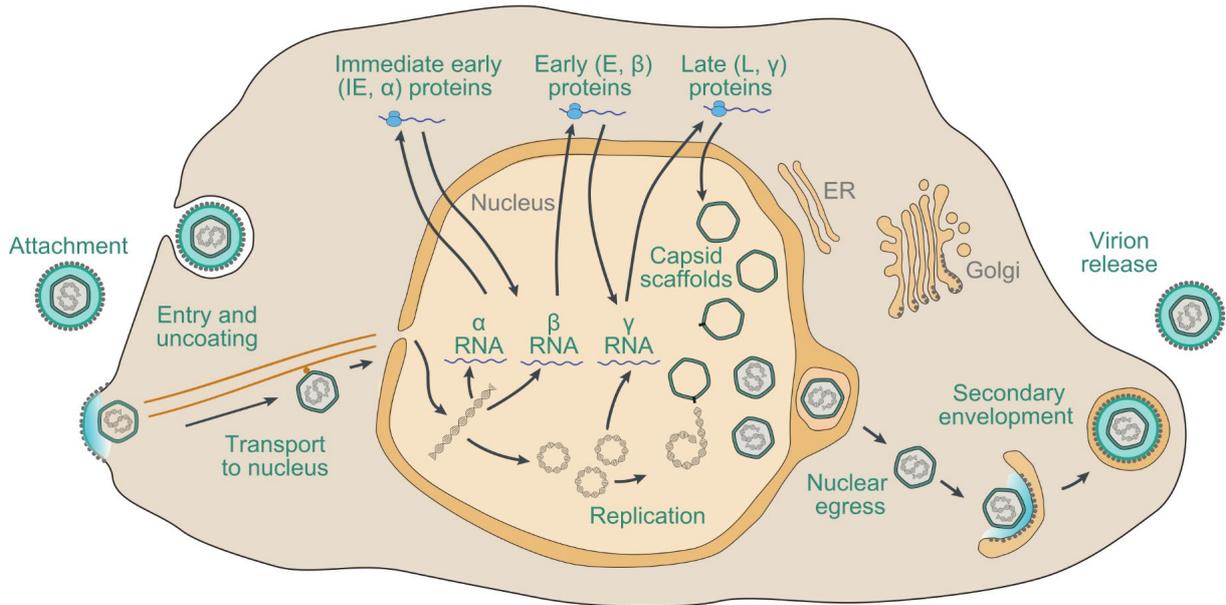
Les autres virus à ADN comme les Adénovirus, les Herpesvirus les Papillomavirus et les Polyomavirus se répliquent dans le noyau et la transcription est assurée par l'ARN polymérase ADN dépendante (ARN pol II) cellulaire. Les ARNm polycistroniques vont subir des épissages afin de devenir des ARNm monocistroniques. Pour certains virus, des phénomènes d'autorégulation vont se produire, comme pour les Herpesvirus.

A.4 Multiplication des Herpesvirus

Les **Herpesvirus** vont avoir non pas deux mais trois phases dans leur cycle de multiplication et synthétiser les protéines en trois lots successifs et coordonnés. Les trois phases s'appellent très précoces, précoces et tardives.

La synthèse des protéines virales se fait en trois phases successives et coordonnées et plus de 70 protéines seront ainsi synthétisées. Une première phase, dite phase très précoce ou α correspond à la synthèse de protéines de régulation, comme des activateurs transcriptionnels. La seconde phase dite β permet la synthèse de protéines précoces qui sont globalement des enzymes impliquées dans la réplication de l'ADN viral (ADN polymérase) et le métabolisme des acides nucléiques (comme la thymidine kinase). La phase tardive ou γ se produit après la réplication et permet la synthèse des protéines de structures, intégrées dans la particule virale.

Il existe une autorégulation entre ses différentes phases. Les protéines α induisent l'expression des gènes β et inhibent l'expression des gènes α . De manière identique, les protéines β induisent l'expression des gènes γ et inhibent les gènes α et β .



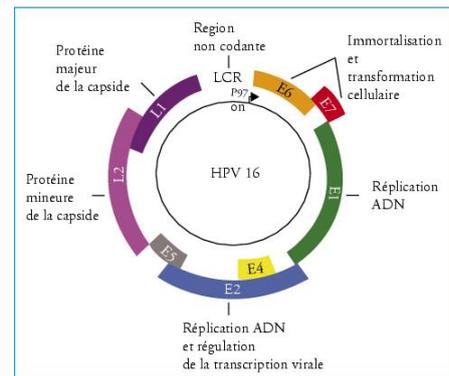
<https://ictv.global/report/chapter/orthohesviridae/orthohesviridae>

A.5 Les Papillomavirus

Les **papillomavirus** possèdent un petit génome et codent pour une dizaine de protéines.

Ce sont des virus nus à capsid icosaédrique, très fréquents, impliqués à la fois dans les verrues cutanées et génitales mais aussi dans certains cancers. Il y a une grande diversité génétique parmi les papillomavirus (voir le cours variabilité génétique). Leur génome est constitué d'ADN double brin circulaire et est associé avec des histones et il fait environ 8000 paires de base.

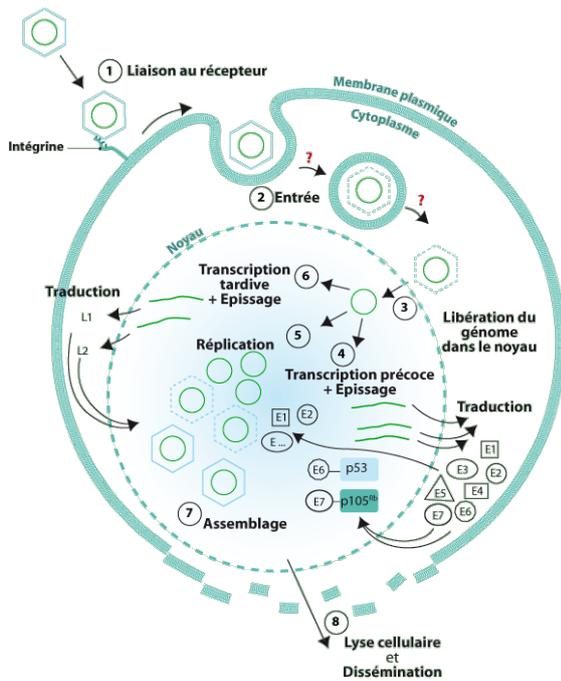
Les ARNm ne pourront être transcrits que dans un seul sens, à partir d'un des brins d'ADN.



Les protéines virales sont exprimées en deux phases (précoce et tardive). Les protéines précoces sont appelées E1, E2... (E pour "early"). Les protéines tardives sont nommées L1 et L2 (L pour "late"). Ce sont les protéines structurales (capside).

Le virus va se fixer à la cellule via sa protéine L1, mais le récepteur n'est pas clairement identifié actuellement. Il entre ensuite dans la cellule par endocytose, et son génome est amené dans le noyau.

Les particules virales sont libérées par lyse cellulaire.



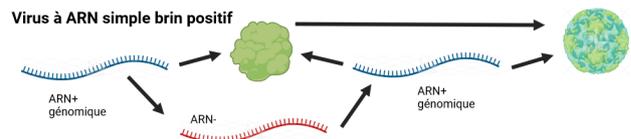
B. REPLICATION DES VIRUS A ARN

Ils ont un génome monocaténaire à l'exception des *Sedoreoviridae*.

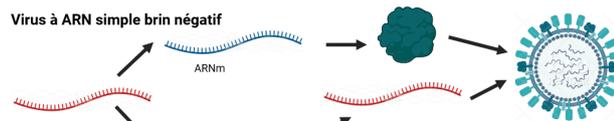
Les virus à ARN ont une multiplication intra cytoplasmique, à l'exception des Orthomyxovirus (virus de la grippe), qui possède une phase nucléaire. Comme il n'y a pas dans la cellule eucaryote d'enzymes synthétisant de l'ARN à partir d'ARN, ils devront toujours synthétiser une ARN polymérase ARN dépendant virale. Il existe plusieurs stratégies de réplication en fonction des virus.

Plusieurs stratégies selon les virus.

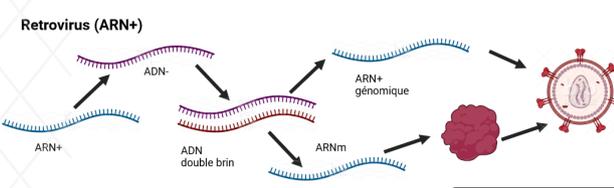
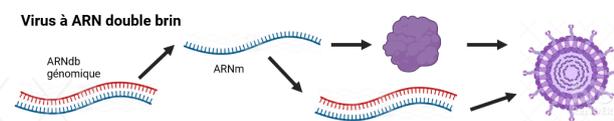
(a) Les virus à ARN simple brin positif comme les *Picornaviridae*. L'ARN + génomique va pouvoir être transcrit en protéine mais il va également servir de « modèle » pour fabriquer un ARN- complémentaire. A partir de cet ARN -, on pourra refabriquer un ARN+. Cet ARN+ va servir tout à la fois d'ARNm pour fabriquer des protéines et aussi de génome pour les nouvelles particules virales.



(b) Virus à ARN simple brin négatif (par exemple les *Paramyxoviridae*). Le génome d'ARN- sera transcrit en ARNm qui permettra la synthèse de protéines. Ces protéines serviront à fabriquer des nouvelles particules virales (protéines de capsid ou d'enveloppe par exemple). Mais l'ARN- va aussi être copié en un brin d'ARN+ complémentaire (pas forcément un ARNm) qui servira de matrice pour fabriquer un ARN- génomique, futur génome des particules virales néoformées.



(c) Virus à ARN double brin (Rotavirus de la famille des *Sedoreoviridae*). Le brin positif de l'ARN double brin ne peut pas être directement traduit en protéines. Il faudra donc en fabriquer un grâce à une



ARN polymérase ARN dépendante. Cet ARN positif servira à la fois d'ARNm traduit en protéines et de brin positif pour les futurs génomes.

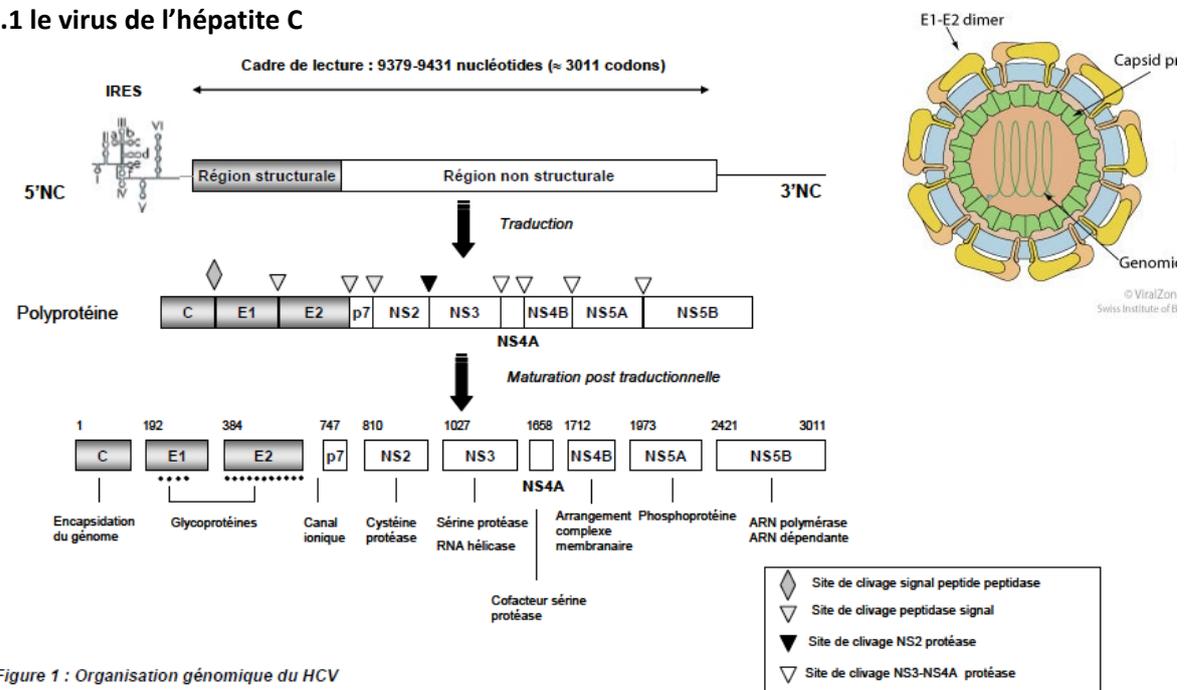
- (d) Les virus de la famille des *Retroviridae* ont un génome à ARN+ qui va subir une rétrotranscription aboutissant à la synthèse d'un ADN double brin complémentaire. Cet ADN sera transcrit en ARNm, lui-même traduit en protéines. Ces protéines seront intégrées dans la nouvelle particule virale. Mais l'ADN sera aussi transcrit en ARN génomique toujours l'ARN polymérase cellulaire.

B.1 Virus à ARN de polarité positive

▲ Deux rôles pour l'ARN génomique :

- ARNm, directement traduit
- matrice pour la synthèse d'un brin complémentaire d'ARN –qui permet la synthèse d'un ARN+
 - ▲ ARN polymérase virale synthétisée
 - ▲ Deux rôles pour l'ARN néosynthétisé :
- ARNm, qui sera traduit
- ARN génomique, qui sera incorporé dans la capsid pour former de nouveaux virions

B.1.1 le virus de l'hépatite C



Le génome viral comporte : a) une région 5' non-codante (5'NC) comportant l'IRES (pour *internal ribosome entry site*). La région IRES permet le recrutement des ribosomes et l'initiation de la traduction au niveau d'un codon AUG, interne à la molécule d'ARN (il n'est pas le premier codon AUG de l'ARN) ; b) Le cadre de lecture codant la polyprotéine virale, schématisé par un rectangle ; et c) une région 3'NC sans queue polyA. Il n'y a pas non plus de coiffe en 5'.

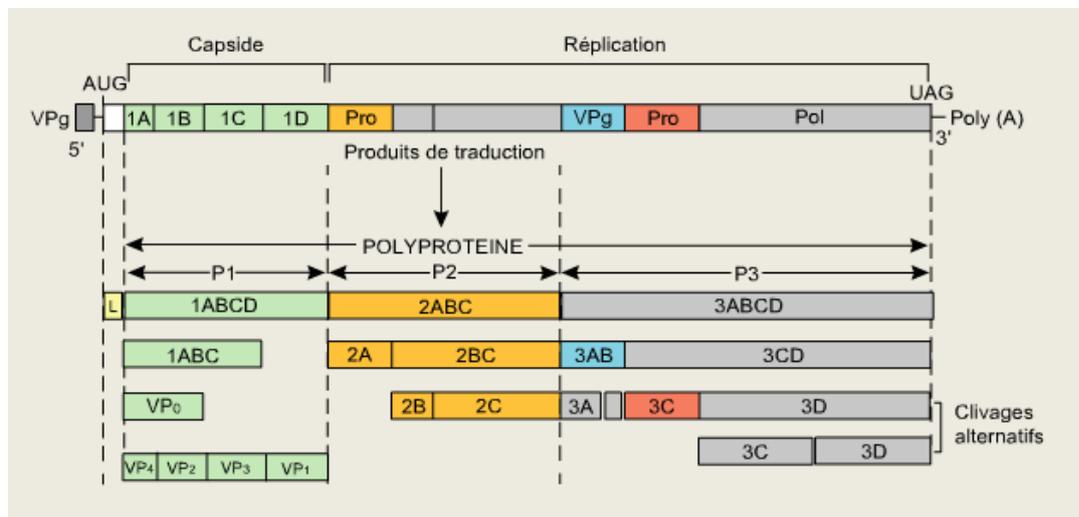
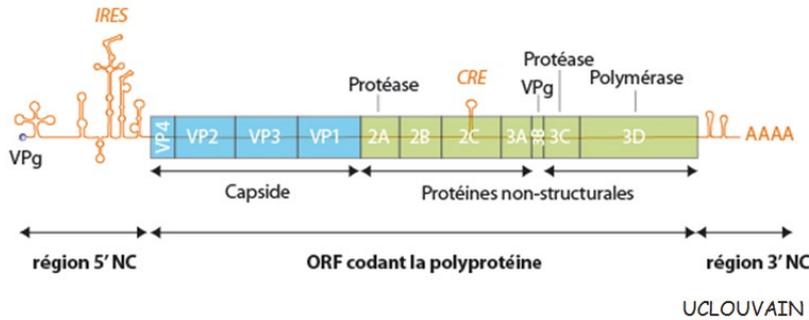
L'ARN viral est directement traduit en une polyprotéine unique qui est ensuite clivée par des protéases (codées ou non par le virus). La protéase NS3/NS4A est ciblée par des médicaments contre le VHC.

Les protéines ainsi formées sont des protéines structurales (en gris) et des non structurales (en blanc).

On trouve une ARN polymérase ARN dépendante (NS5B) qui va assurer la réplication de l'ARN viral avec son cofacteur NS5A. Ils sont tous les deux ciblés par des antiviraux.

B.1.2 le poliovirus

Le génome viral comporte : a) une région 5' non-codante (5'NC) comportant un IRES (*internal ribosome entry site*). b) Le cadre de lecture codant la polyprotéine virale ; et c) une région 3'NC qui se termine par une queue de polyA. La petite protéine VPg (= protéine 3B) est liée de manière covalente à l'extrémité 5' du génome viral.



L'ARN viral est directement traduit en une polyprotéine unique qui est ensuite clivée par des protéases (codées ou non par le virus)

Les protéines ainsi formées sont des protéines structurales et des non structurales.

On trouve une ARN polymérase ARN dépendante (3D) qui va assurer la réplication de l'ARN viral

Le clivage pendant la traduction va entraîner la synthèse de P1, P2 et P3.

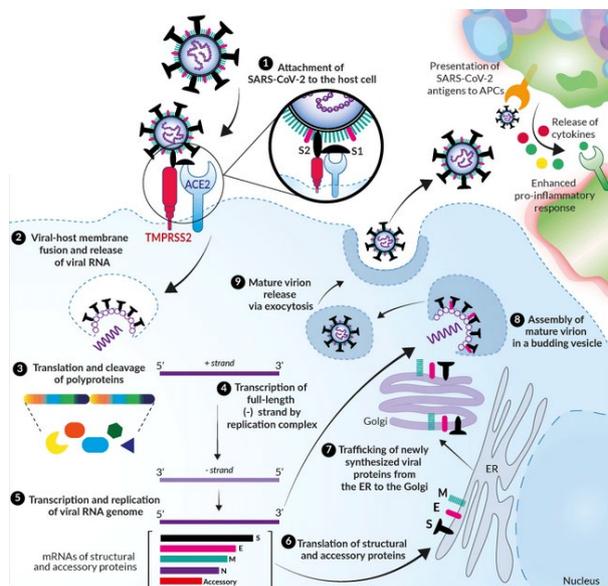
P1 : protéines de capsid (VP1-VP4)

P2, P3 : protéines non structurales (protéases, protéines impliquées dans la réplication du génome et l'inhibition des synthèses cellulaires)

B.1.3 Les Coronavirus

Le génome est composé d'un ARN simple brin de polarité positive. Il est libéré dans le cytoplasme et une partie du génome est traduite en 2 polyprotéines qui sont clivées par des protéases virales pour donner le complexe de réplication (ARN polymérase ARN dépendante) (ainsi que d'autres protéines non structurales impliquées dans la réplication).

La réplication a lieu dans des usines virales. Il y aura synthèse d'un ARN négatif anti-génomique



complémentaire qui permet la synthèse de nouveaux génomes viraux. Ces génomes seront recouverts de la protéine de la capsid et intégrés dans les nouvelles particules virales. Il y aura également synthèse d'un certain nombre d'ARNm de taille différente qui seront traduits en protéines structurales (S E M et N) et en protéines non structurales.

B.2 Virus à ARN de polarité négative et bicaténaires

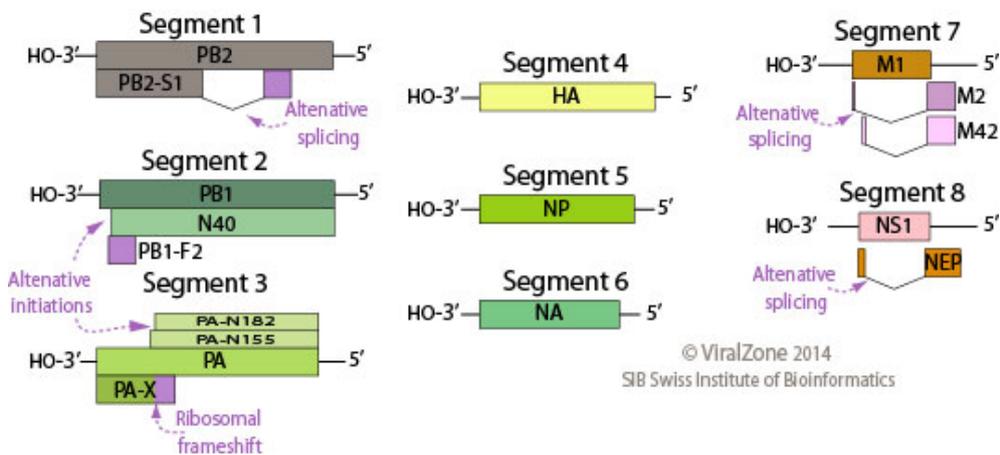
Dans le cas d'un génome à polarité négative, l'ARN génomique est non messager. Il y a toujours nécessité en première étape d'une transcription en ARNm par une ARN polymérase virale constitutive (transcriptase).

L'ARN néosynthétisé a deux rôles. Il va à la fois servir d'ARNm pour fabriquer des protéines virales. Mais il va aussi servir de matrice pour la synthèse de brins complémentaires génomiques d'ARN-, incorporés dans la capsid

L'ARN polymérase virale est constitutive. Cela veut dire qu'elle est présente à l'intérieur de la particule virale, pour être disponible immédiatement après l'entrée du virus dans la cellule.

B.2.1 Virus de la grippe A

Voyons tout d'abord un exemple de virus à ARN de polarité négative dont le génome est segmenté (le virus de la grippe A). Le virus de la grippe A a un génome constitué de huit segments de tailles différentes. En gros, un segment va permettre la synthèse d'un ARNm, et d'une protéine. Certains segments vont en fait permettre la synthèse de plusieurs protéines, par différentes techniques que l'on reverra (épissage alternatif = alternative splicing, alternative initiations, ribosomal frameshift). Ceci permet d'augmenter les capacités de codage.

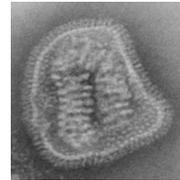
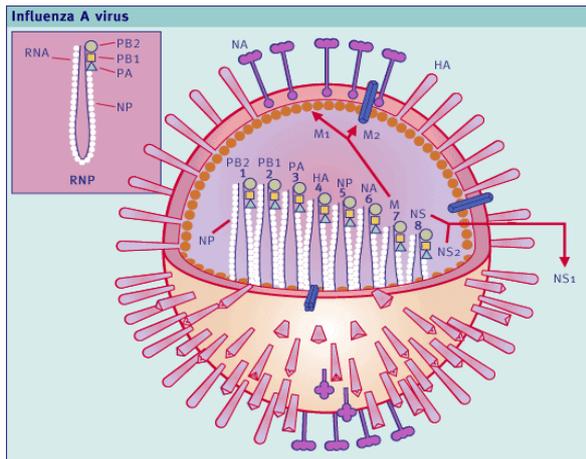


Les fragments 1 2 et 3 codent pour le complexe ARN polymérase, à savoir PB2 PB1 et PA.

Le fragment 4 code pour l'hémagglutinine, le 5 pour la nucléoprotéine, le 6 pour la neuraminidase. Le fragment 7 permet la synthèse des protéines M1 (matrice) et M2 (canal ionique). Le fragment 8 permet la synthèse des protéines non structurales NS1 et NEP (Nuclear export protein, présente dans le virion). La protéine NS1 intervient dans la régulation de l'expression des protéines cellulaires et virales durant l'infection. Elle inhibe la synthèse protéique cellulaire en bloquant la polyadénylation des ARNm cellulaires, leur épissage et leur export vers le cytoplasme

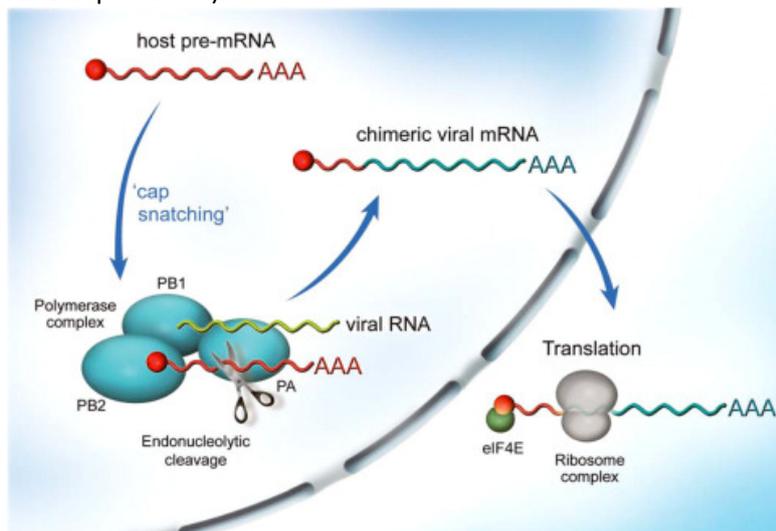
Tous les segments viraux sont associés à un complexe polymérase (voir RNP dans l'inset rose).

Un système de capture de coiffe est nécessaire à la transcription en ARNm. En effet, la transcriptase virale nécessite une amorce pour travailler. Elle va utiliser un fragment d'un ARNm cellulaire et c'est pourquoi le virus de la grippe possède une phase nucléaire.



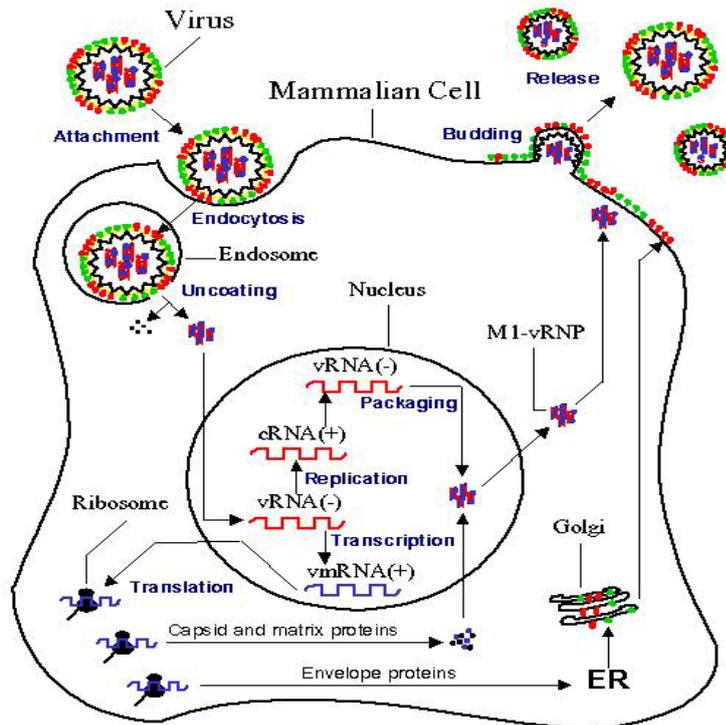
Phase nucléaire

Lors de la phase nucléaire du cycle du virus de la grippe, l'ARN génomique viral s'apparie avec un ARNm cellulaire. La sous unité PB2 est capable de fixer les coiffes en 5' des ARNm cellulaires. Ces ARNm cellulaires capturés sont ensuite clivés par PA qui possède une activité endonucléase et servent alors de matrice pour la synthèse des ARNm viraux par la sous-unité PB1 (ARN polymérase ARN dépendante).



Le mécanisme de réplication est distinct de celui de transcription. Les segments d'ARNv sont répliqués en ARNc, qui servent de matrices pour la synthèse de nouveaux ARN viraux génomiques. L'initiation de la synthèse des ARNv et ARNc ne nécessite pas d'amorces. Les ARN génomiques sont ensuite exportés vers le cytoplasme. Cette étape fait intervenir NEP (*Nuclear export protein*) et la protéine de matrice M1.

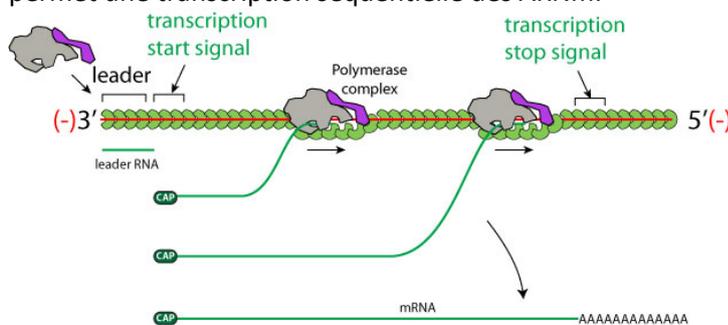
Au total, deux éléments caractérisent la réplication du virus grippal : la participation du noyau cellulaire et la nécessité d'une fonction cellulaire (transcription pour fournir une amorce à la transcriptase virale).



B.2.2 Virus à ARN de polarité négative à génome non segmenté

Passons maintenant à un autre type de virus à ARN de polarité négative, ceux dont le génome n'est pas segmenté comme les *Filoviridae*, les *Paramyxoviridae*, et les *Rhabdoviridae*.

Prenons l'exemple d'un paramyxovirus comme le virus de la rougeole. La transcription et la réplication sont faites par l'ARN polymérase virale. Chaque gène est encadré par une séquence de départ et une séquence d'arrêt qui permet une réinitiation de la transcription à chaque jonction. Ceci permet une transcription séquentielle des ARNm.

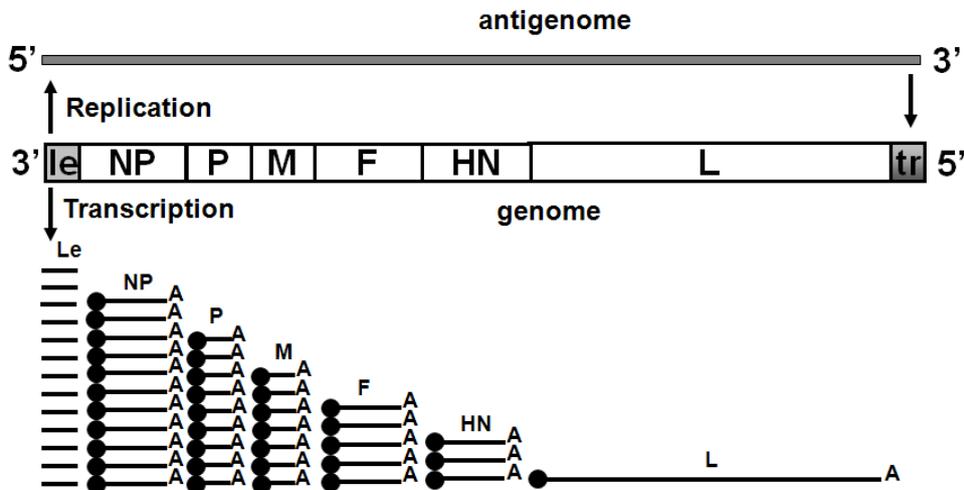


La réplication et la transcription sont réalisées par la polymérase L et la phosphoprotéine P (complexe RNA pol RNA dep).

Durant la transcription, RdRp reconnaît un promoteur dans la région 3' du génome et synthétise séquentiellement six ARNm coiffés et queue polyA, NP P M F HN et L. L'abondance des ARNm décroît quand on s'éloigne de l'extrémité 3'. NP>P>M>F>HN>L. Dans ce modèle la synthèse des gènes aval est sous la dépendance de la terminaison des gènes amont.

Ainsi, l'expression des gènes serait contrôlée par leur position relative à l'extrémité 3' du génome. Les unités de transcription sont flanquées de deux régions Leader (Le) et Trailer (Tr) qui contiennent respectivement le promoteur de transcription et les promoteurs de réplication génomiques et antigénomiques.

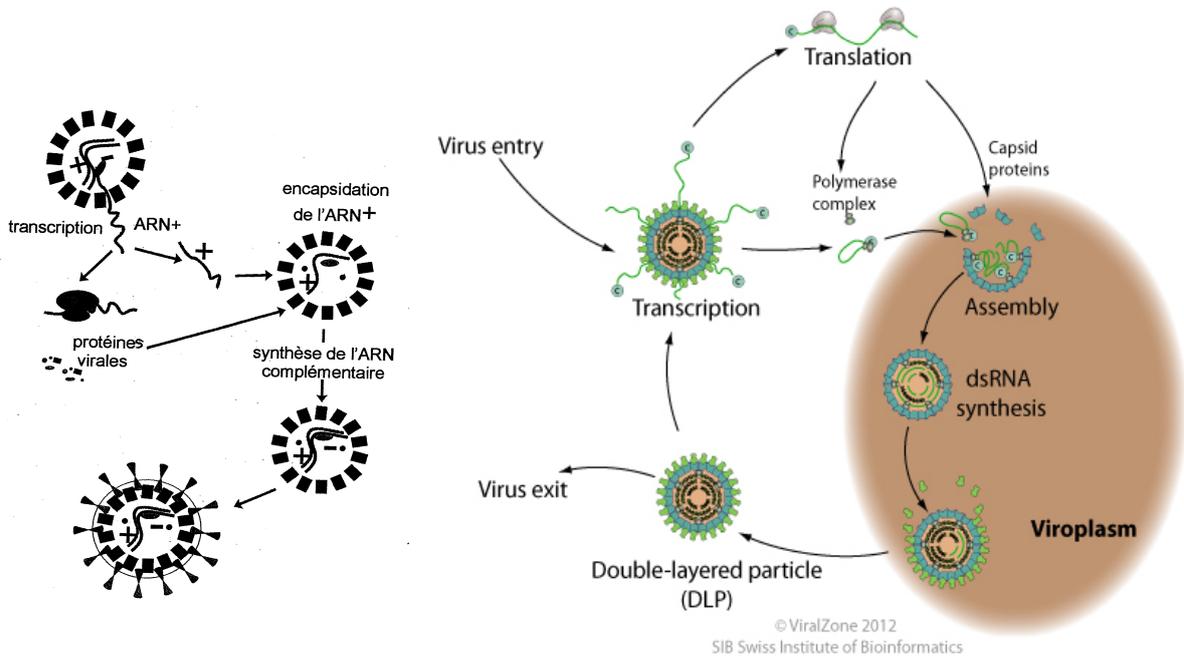
Durant la réplication (fabrication des nouveaux génomes viraux), la RdRp commence à l'extrémité 3' du génome et synthétise un ARN complémentaire complet antigénome. A son tour l'antigénome va servir de matrice pour la synthèse des ARN génomiques.



B.2.3 Virus à ARN bicaténaire.

Ils possèdent une ARN polymérase constitutive. Les virus de la famille des *Sedoreoviridae* sont les seuls virus humains à ARN bicaténaires. Leur génome est segmenté en 11 segments pour les rotavirus. A chaque segment correspond en gros un ARNm. La transcription et la réplication sont assurées par l'ARN polymérase virale. Ces ARNm possèdent une coiffe en 5' mais ils sont dépourvus de queue poly A en 3'. A la place, ils ont une séquence consensus (UGACC) conservées dans les 11 gènes viraux qui jouent un rôle dans la traduction. Ces ARNm vont servir à la fois à la synthèse de protéines virales et de matrice pour la synthèse des nouveaux génomes.

La structure double brin de leur génome empêche la traduction du brin + dans le duplex d'ARN. En outre, si le génome était libéré dans l'hôte, il pourrait déclencher des défenses de l'hôte et faire avorter le processus infectieux. En effet, comme la cellule ne synthétise normalement pas d'ARN double brin, elle a un système d'alerte qui lui permet de détecter la présence d'un virus grâce à cet ARN double brin. C'est pourquoi le début de la transcription se fait dans une particule partiellement décapsidée. L'ARNm ainsi fabriqué sera traduit en protéines virales. Le brin positif va aussi être encapsidée et il y aura synthèse du brin ARN- complémentaire à l'intérieur de cette nouvelle capsid. Ceci se déroulera dans une région particulière du cytoplasme qu'on appelle le viroplasma, une sorte d'usine à virus. Au final, tout ceci permettra d'éviter la présence d'ARN bicaténaire et d'ARN négatif dans le cytoplasme.



B.3 Virus impliquant une transcriptase inverse

Comment se déroule la réplication des virus impliquant une transcriptase inverse ?

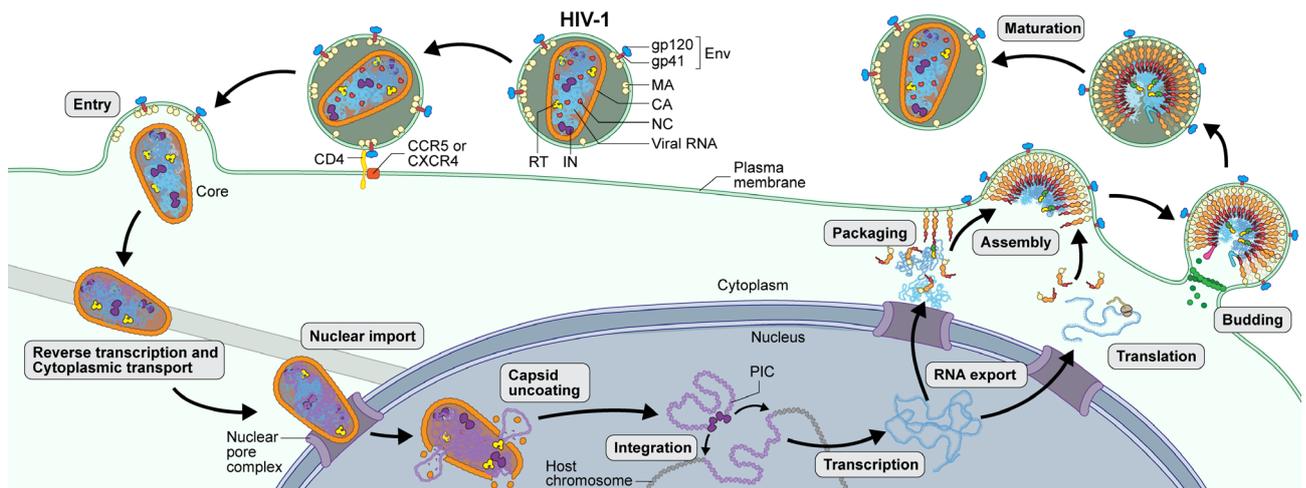
La transcriptase inverse (TI) en français ou reverse transcriptase (RT) (en anglais) permet la production d'ADN à partir d'ARN positif. C'est exactement l'inverse de ce que fait normalement une cellule, d'où le nom !

On va trouver deux familles qui possèdent une RT. Les *Retroviridae* dont le génome est constitué d'ARN de polarité positive. C'est ce génome qui sera transformé en ADN pour être intégré dans le génome de la cellule hôte. Le virus de l'Hépatite B qui appartient à la famille des *Hepadnaviridae*, dont l'ARN positif est en fait un intermédiaire de réplication qui permettra cette fois-ci la synthèse du génome à ADN. Mais on va revoir en détails ces deux cas.

B.3.1 Cycle de multiplication du VIH.

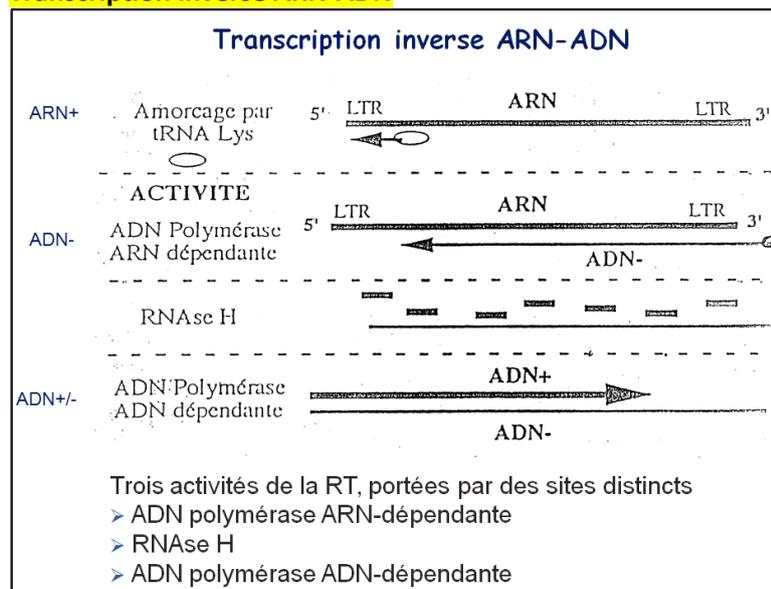
Ce sont des virus à ARN positif mais qui doivent être d'abord transcrit en ADN proviral double brin par une enzyme virale qui est donc une transcriptase inverse. Ceci permet l'intégration du virus à l'état de provirus dans le génome cellulaire. C'est à partir de cet ADN intégré (sous l'action d'une intégrase) que seront exprimés les gènes viraux et la réplication.

Le cycle commence par une phase précoce où le virus se fixe à son récepteur (CD4) et à l'un de ses co-récepteurs (CCR5 ou CXCR4), entraînant la fusion de l'enveloppe virale avec la membrane plasmique. La capsid est libérée dans le cytoplasme et le génome sera transformé en ADN double brin par la TI au sein de la capsid. Ce double brin d'ADN va être transporté dans le noyau toujours au sein de la capsid et s'intégrer au génome de la cellule. L'intégration sous forme de provirus se fait au hasard dans l'ADN cellulaire grâce à une endonucléase virale qui s'appelle l'intégrase (une enzyme codée par le virus et présente dans la particule virale). L'ADN proviral peut alors, soit rester quiescent, soit s'exprimer et permettre un cycle productif.



L'ADN proviral ou provirus est assimilé à un gène cellulaire et sera transcrit par la cellule. Lors de la phase tardive, grâce notamment à la protéine virale Tat, un activateur transcriptionnel viral le génome du provirus sera transcrit et les ARN permettront à la fois la synthèse de nouvelles protéines et constitueront de nouveaux génomes. Le provirus assure ainsi la persistance du génome viral et la synthèse des ARNm et génomiques.

Transcription inverse ARN-ADN

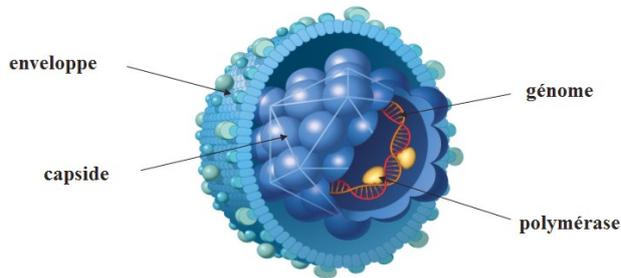


Quelques mots sur la transcription inverse faite par le VIH. Elle va commencer par la synthèse d'un brin d'ADN complémentaire du brin d'ARN positif viral. Pour démarrer, la polymérase a besoin d'une amorce. La RT va utiliser un ARNt correspondant à la Lysine, « empruntée » à la cellule. Ceci va permettre au final la synthèse d'un hybride ARN/ADN. Il y a aura ensuite dégradation de l'ARN de départ et puis synthèse du brin complémentaire d'ADN pour former un ADN double brin. Cette enzyme possède donc en fait trois activités, portées par des sites distincts. ADN polymérase ARN dépendante, une activité RNase H et une activité ADN polymérase ADN dépendante.

B.3.2 Virus de l'Hépatite B

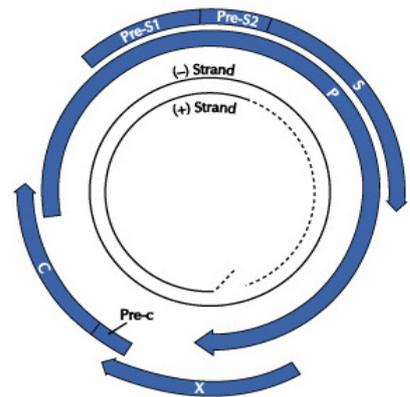
Le virus de l'Hépatite B appartient à la famille des *Hepadnaviridae*. C'est un virus enveloppé. Son génome est constitué d'ADN bicaténaire partiellement monocaténaire protégé dans une capsidie icosaédrique. La particule virale contient également une polymérase dont les propriétés sont très

proches de celle du VIH, reverse transcriptase, RNase et polymérase. Ceci a été exploité au niveau des antiviraux. En effet, une partie des médicaments efficaces contre le VIH sont également efficaces contre le VHB car ils ciblent la TI !

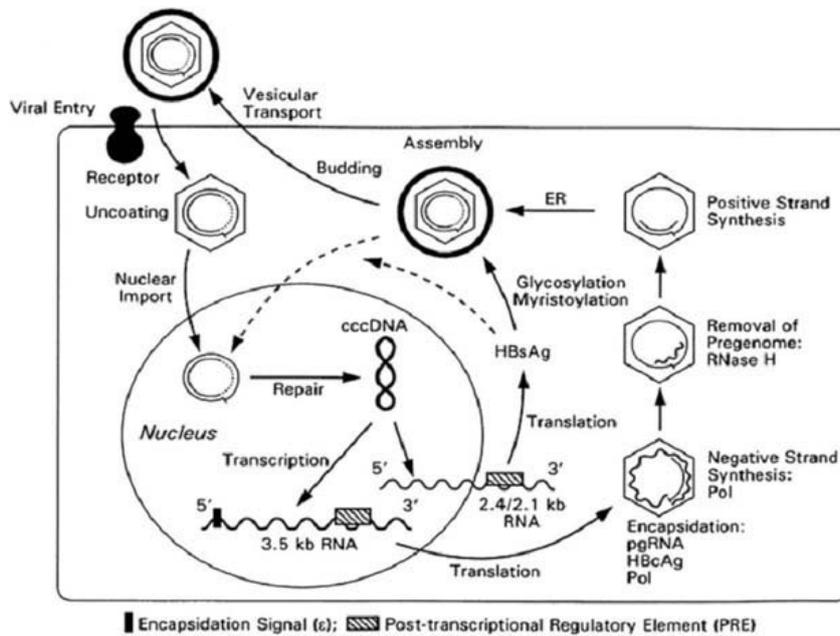


Organisation du génome.

Le génome est très petit. Il fait 3200 bases. C'est un des plus petits génomes. Le brin négatif est le plus long. Le brin positif est plus court. Il y a 4 cadres de lecture qui se chevauchent. L'orf Pré-S1 Pré-S2 et S qui correspond aux protéines d'enveloppe. Le gène P code la polymérase. Pré-C et C codent les protéines de capside et le gène X code une protéine transactivatrice des promoteurs du virus et du génome cellulaire et qui a un rôle dans le déclenchement du cancer hépatique, une des complications majeures de l'hépatite B.



Cycle de réplication du VHB.



ccc DNA (covalently closed circular DNA)

Le génome du VHB va être transporté dans le noyau. Une fois dans le noyau, son brin positif sera complété pour former un génome d'ADN circulaire complet. C'est ce qu'on appelle le cccDNA pour *covalently closed circular DNA*. Cette forme de génome va pouvoir persister très longtemps dans les hépatocytes à côté du génome cellulaire. Lorsque le génome sera transcrit, il le sera en différents ARNm, notamment un ARNm de 3.5kb qui sera transporté dans le cytoplasme et encapsidé avec la polymérase virale. Cet intermédiaire va permettre la synthèse d'un brin d'ADN -. C'est le premier brin du futur génome. Ensuite l'enzyme va détruire l'ARN de départ et synthétiser un brin d'ADN positif complémentaire. Elle s'arrête en chemin, ce qui explique que le brin positif est plus petit que le brin

négatif. Le virus sera ensuite enveloppé grâce au réticulum endoplasmique (ER) et sortira de la cellule.

Comparaison de la transcription inverse du VIH et du VHB		
	Virus de l'immunodéficience humaine (VIH)	Virus de l'Hépatite B (VHB)
Famille du virus	<i>Retroviridae</i>	<i>Hepadnaviridae</i>
Structure et topologie (circulaire ou linéaire) du génome viral	ARN simple brin linéaire de polarité positive	ADN circulaire partiellement double brin
Matrice pour la synthèse d'ADN	Génome viral	Intermédiaire de réplication
Site de la transcription inverse (cytoplasme ou noyau)	cytoplasme	cytoplasme
Structure et topologie de l'ADN formé	ADN double brin linéaire	ADN circulaire partiellement double brin
Devenir et rôle de l'ADN formé	intégré dans le génome cellulaire (persistance du génome viral) Permet la transcription des ARNm viraux et la synthèse des nouveaux génomes viraux	Constitue le génome des nouvelles particules virales et sera incorporé dans la particule virale

Voici un tableau de comparaison de la transcription inverse du VIH et du VHB qui vous clarifiera les choses (enfin je l'espère).

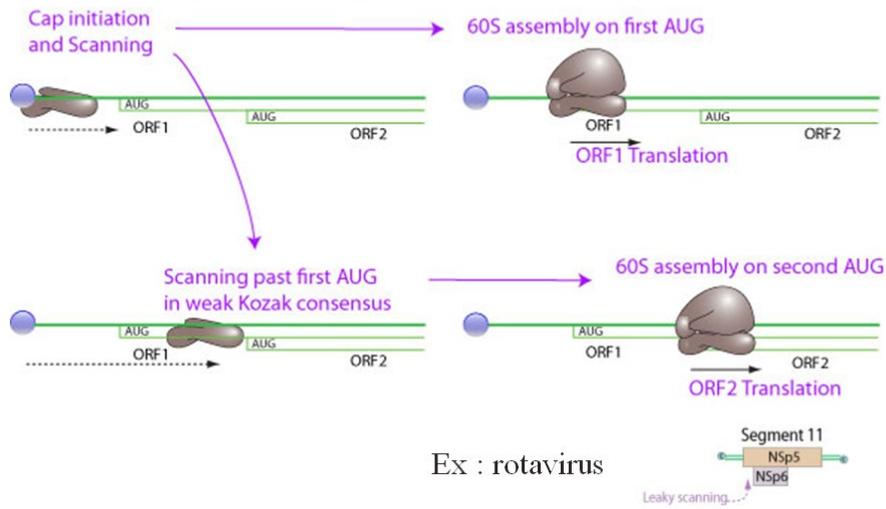
B.4 Stratégie de synthèse des protéines virales chez les virus à ARN

Une caractéristique clé de la traduction des cellules eucaryotes est que leurs molécules d'ARNm ne déterminent qu'une seule protéine. Pourtant les virus à ARN doivent générer plusieurs protéines. Plusieurs stratégies existent pour les virus à ARN.

- 1) Une polyprotéine peut être clivée pour donner toutes les protéines nécessaires (picornavirus, flavivirus)
- 2) Grâce à un Génome segmenté 1 segment = 1 ARNm
- 3) Certains virus ont une ARN polymérase ARN dépendante capable d'initier une synthèse d'ARNm au niveau de sites internes de l'ARN modèle, ce qui génère un ARNm subgénomique plus petit.
- 4) L'épissage alternatif permet de générer différents transcrits donc différentes protéines à partir de la même région du génome
- 5) La traduction elle-même peut conduire à la synthèse de multiples protéines (par déphasage ribosomique). Ceci permet de traduire un cadre de lecture différent et de produire une protéine différente avec chaque cadre.

En pratique c'est une combinaison de tout cela que l'on retrouve chez de nombreux virus, qui utilisent en fait plusieurs stratégies.

▲ « Leaky scanning »



Je vous montre ici ce qu'on appelle le *leaky scanning*, qui se produit par exemple chez les rotavirus dans le segment 11, permettant ainsi la synthèse de deux protéines non structurales NSP5 et NSP6. L'unité 40s du ribosome vient scanner l'ARNm jusqu'au premier AUG. L'unité 60s est recrutée et démarre la synthèse d'une protéine correspondante au premier cadre de lecture (ORF1). Mais parfois, le 40s passe sans s'arrêter sur le premier AUG et ne s'arrête que sur le second. Commence alors la traduction d'un autre cadre de lecture (ORF2).