

UE Immunologie – Virologie

L3 Biologie Santé

VIROLOGIE

Cécile Lagaudrière

Département de Virologie
Institut de Biologie Intégrative de la Cellule
CNRS, Université Paris-Sud, CEA
Gif sur Yvette, France



Biologie cellulaire et immunologie des infections virales

PLAN

I/ Introduction, définition virus, cycle viral

II/ Interaction cellule hôte - virus

- Entrée des virus dans une cellule
- Réplication et expression des génomes
- Sortie des virus

III/ Interaction système immunitaire - virus

Echappement des virus au système immunitaire

IV/ Vaccination et Virologie appliquée

Notions de base de Virologie

- Qu'est-ce qu'un virus ?
- Stratégies de réplication des virus.

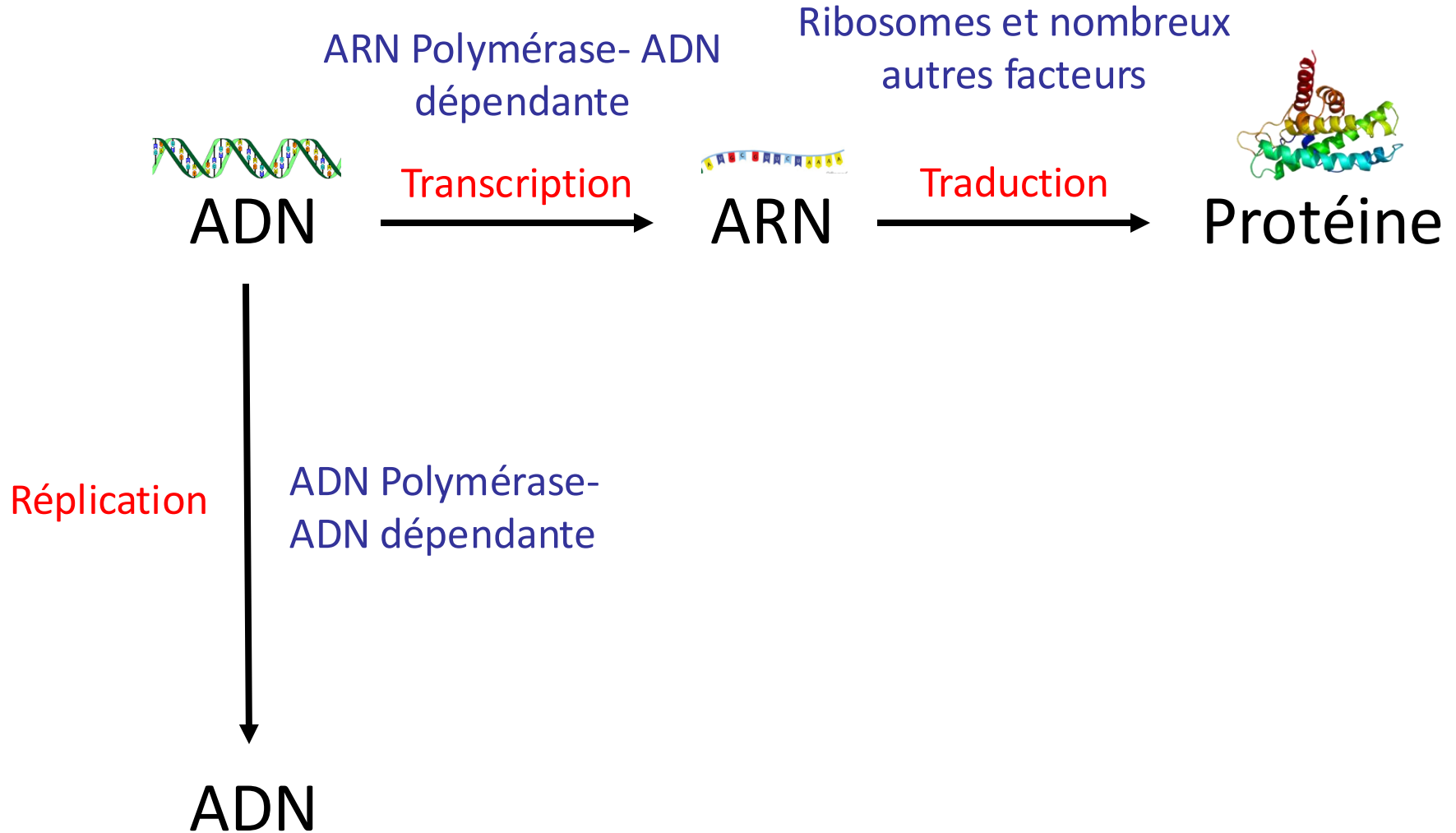
Doc « Généralités sur les virus » (PDF sur ecampus)

<http://viralzone.expasy.org/>

Principles in Virology (Flint, Enquist, Racaniello, Skalka), 2nd edition, ASM press

Le « dogme » central
de la biologie

Du gène à la protéine

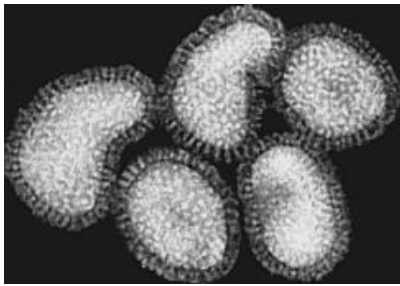


Qu'est ce qu'un
virus ?

Quelques généralités

- Il n'existe pas une espèce vivante chez qui, si on la regarde d'un peu près, on ne rencontre des virus :

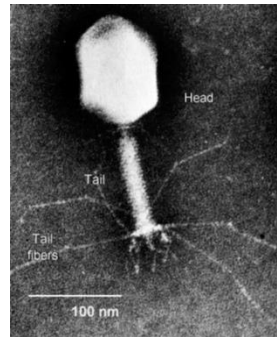
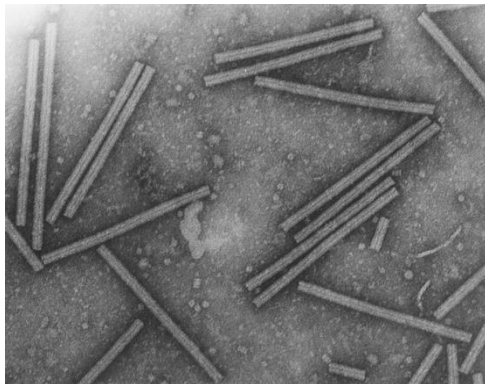
Les virus infectent les trois règnes



Influenza virus

Eucaryotes

Tobacco mosaic virus



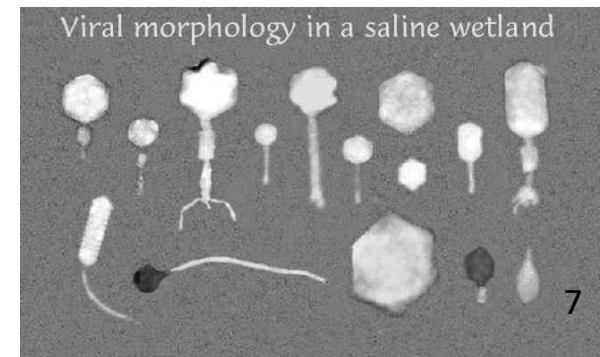
Phage T4

bactéries



S. Shibatae virus 1

Archae



Quelques généralités

- Il n'existe pas une espèce vivante chez qui, si on la regarde d'un peu près, on ne rencontre des virus.
- Les maladies virales sont connues depuis des millénaires.
 - 2500 AV JC : les chinois ont reconnu la nature et les caractères spécifiques de la variole.
 - 460 AV JC : les oreillons sont décrits par Hippocrate.

Et la médecine ?

Formule à prononcer en cas de morsure par un chien enragé (III^{ème} siècle AV JC):

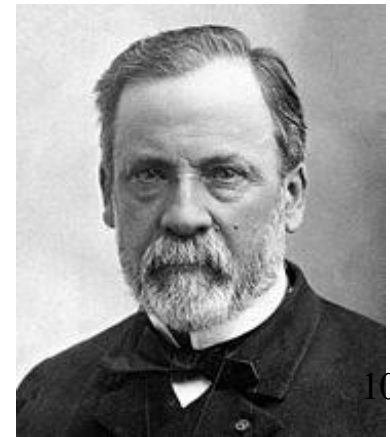
« O toi chien qui est un des dix chiens appartenant à Anubis, son propre fils, enlève ton poison par des charmes, écarte maintenant de moi ta salive. Si tu n'enlèves pas par tes charmes ton poison et si tu n'écarteras pas de moi maintenant ta salive, je t'emporterai dans la cour du temple d'Osiris. »

Et en même temps :

« Broie de l'ail et applique le sur la plaie causée par le chien qui a mordu, et récite lui la formule jusqu'à ce qu'elle guérisse. »

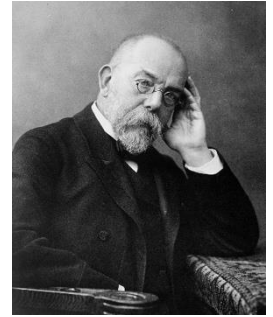
Les premiers succès

- *XVI^{ème} siècle* : les Chinois pratiquent la variolisation.
- *1796* : première vaccination anti-variolique par Jenner.
- *1885* : Pasteur et la vaccination anti-rabique.



Théorie microbienne des maladies épidémiques

Les postulats de Koch

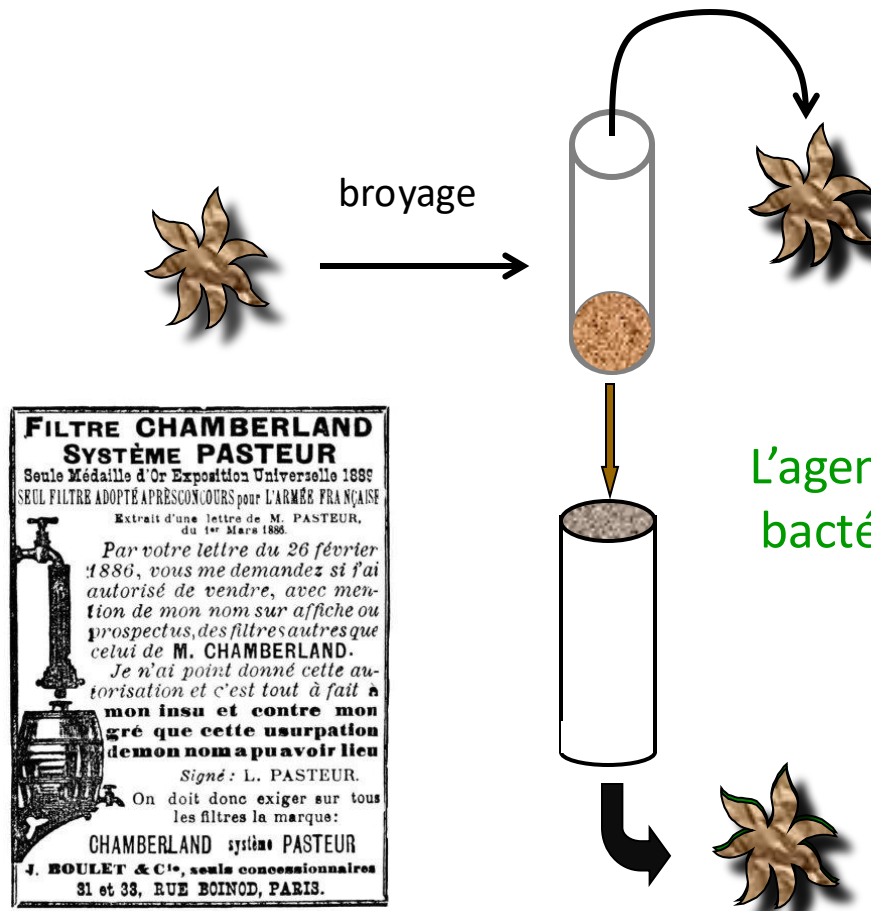


Un microorganisme est l'agent responsable d'une maladie si ces 4 postulats sont vérifiés :

- 1) Il doit être régulièrement trouvé dans les lésions associées à la maladie.
- 2) Le microorganisme doit être isolé et mis en culture.
- 3) L'inoculation de cette culture à l'hôte doit conduire à la maladie.
- 4) On doit alors retrouver le microorganisme dans les lésions de l'hôte.

Vers la définition du virus

- **1891** : Ivanowski montre le virus de la mosaïque du tabac (VMT) est ultrafiltrable.



Conclusion :

L'agent pathogène n'est pas une
bactérie (retenue par le filtre) .

VIRUS FILTRANT

Vers la définition du virus

- **1891** : Ivanowski montre le virus de la mosaïque du tabac (VMT) est ultrafiltrable.
- **1898** : Beijerinck montre que le VMT est soluble. Ce n'est pas un microbe mais un contagium vivum fluidum. Il doit pour se reproduire être introduit dans la cellule.
- **Années 30** : détermination de la composition des virions. Le VMT est vu en microscopie électronique.



Et ensuite

En 1898, Freidrich Loeffler & Paul Frosch montrent qu' un agent similaire est responsable de la fièvre aphteuse chez le bétail.

Ces nouveaux agents provoquent des maladies aussi bien chez les animaux que chez les plantes.

En 1909, Landsteiner & Popper montrent que la poliomyélite est provoquée par un agent filtrable.

C'est la première maladie humaine qui a été reconnue comme due à un virus.

Les hypothèses de Boycott en 1928

Les virus sont entre matière vivante et matière inerte

Ils sont sous forme particulière de taille réduite $< 25\text{nm}$

Pas d'activité respiratoire ni métabolique compliquée

Induisent une immunité protectrice donc nature protéique

« Les virus sont les virus »
André Lwoff

Définition d'un virus

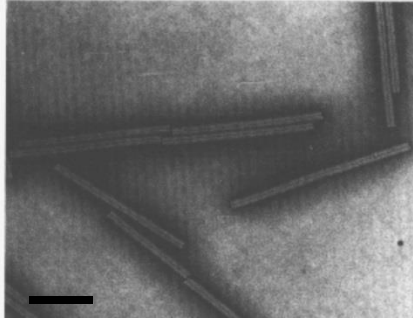
André Lwoff - 1953

Un virus est une entité **potentiellement** pathogène, **strictement intracellulaire**, ayant une phase infectieuse :

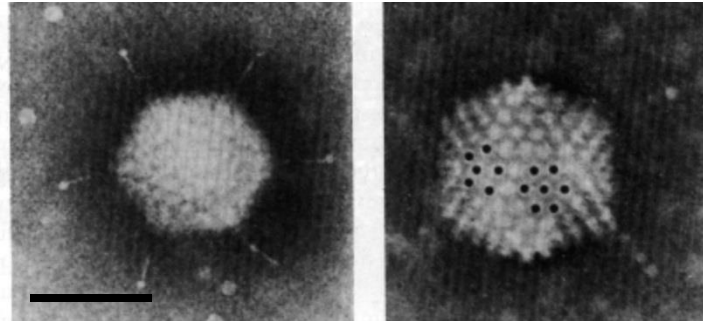
- qui ne possède qu'un seul type d'acide nucléique (ADN ou ARN),
- qui se reproduit à partir de son seul A.N. (les autres êtres se reproduisent à partir de la somme de leurs constituants),
- qui est incapable de croître et de suivre des divisions binaires,
- Qui n'a aucune information génétique concernant les enzymes du métabolisme intermédiaire (énergie)
- qui utilise des structures de la cellule-hôte (spécialement les ribosomes) pour sa multiplication

Ce sont des *parasites absolus* ou *parasites intracellulaires stricts*.

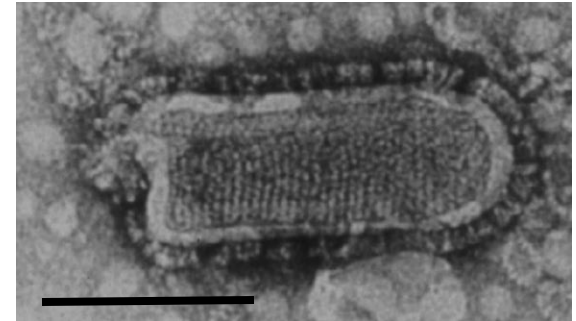
Quelques virus



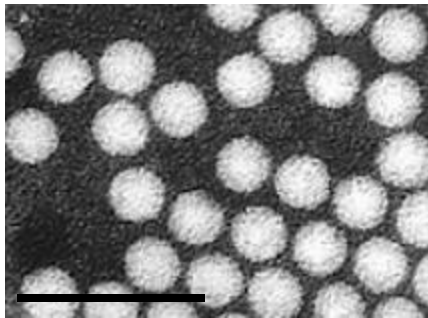
Mosaïque du tabac



Adenovirus



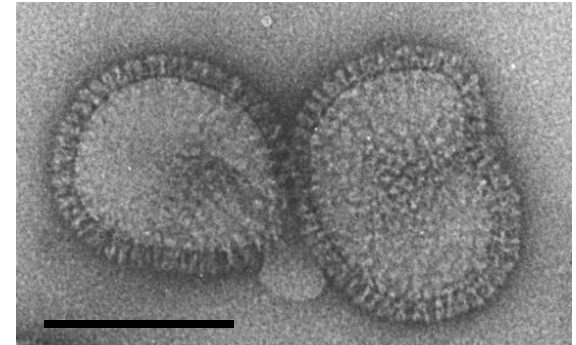
Stomatite vésiculaire



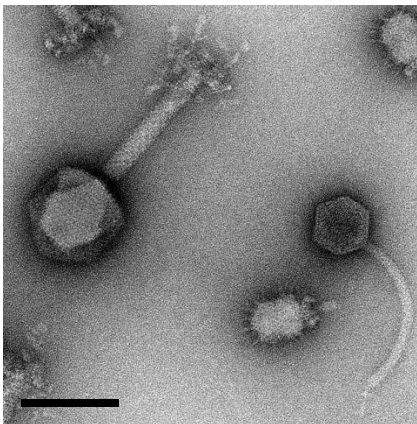
Poliovirus



Herpes simplex



Grippe

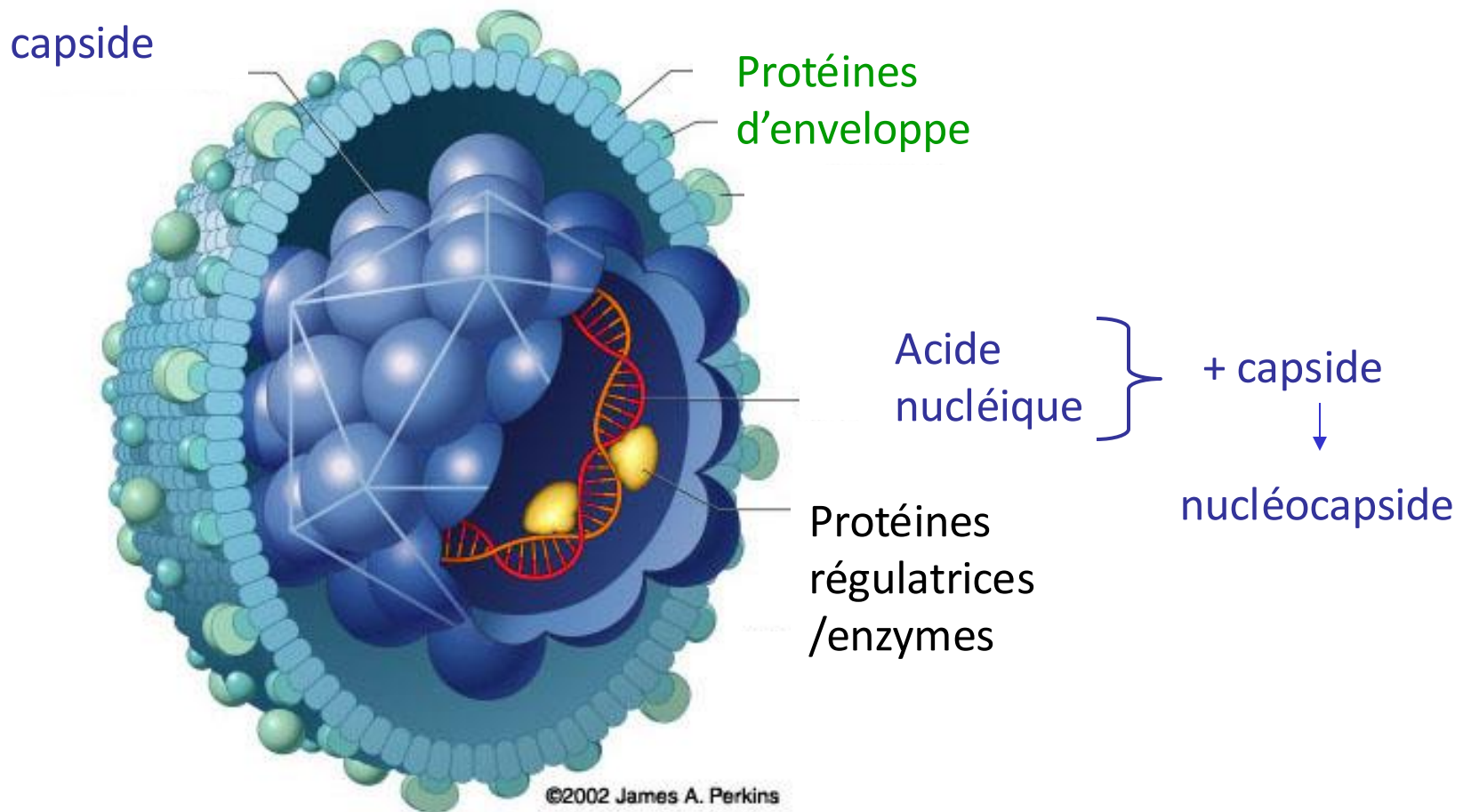


Bactériophages



Filovirus

Organisation des virus (1)



Enveloppe : bicouche lipidique constituée de **protéines virales**, protéines, lipides et sucres cellulaires

Virion : phase ultime du développement

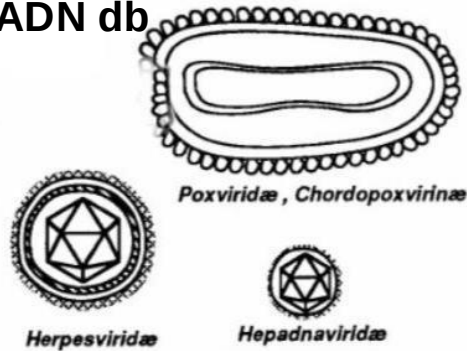
Deux types de virus

- Les **virus non enveloppés**.
- Les **virus enveloppés** qui possèdent une membrane.
 - ✓ Cette membrane est constituée d'une bicouche lipidique.
 - ✓ Sa composition en lipide ne reflète pas forcément la composition lipidique moyenne de celle de la cellule hôte.
 - ✓ Cette membrane contient une ou plusieurs protéines transmembranaires (virales).

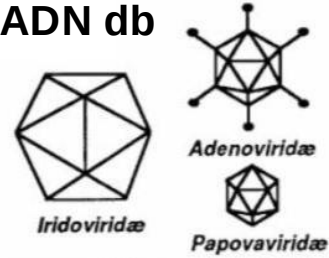
Virus enveloppés

Virus non enveloppés

ADN db



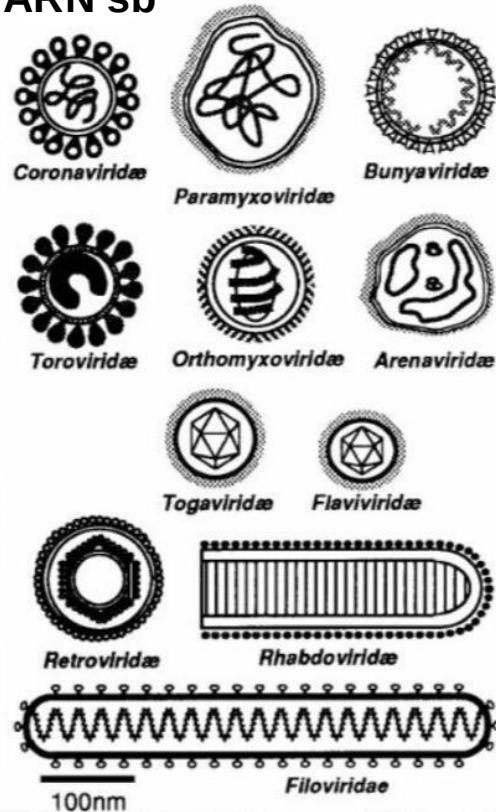
ADN db



ADN sb



ARN sb



ARN db



ARN sb



Capside : deux types de symétrie

1) Symétrie hélicoïdale :

- Structures allongées de nombreux virus de plante
- Bactériophages
- Nucléocapsides de virus enveloppés

2) Symétrie icosaédrique :

- Virus « sphériques »

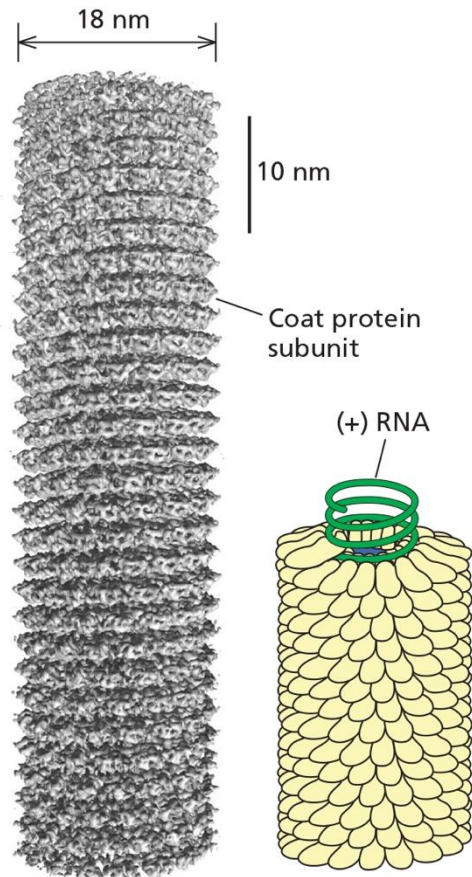
Structure combinée

Le virus de la mosaïque du tabac

Virions rigides ou flexueux - structure ouverte

Structure définie par son diamètre d , son pas P et le nombre μ de sous-unités / tour

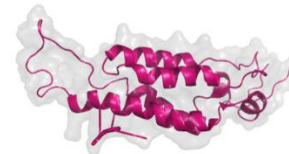
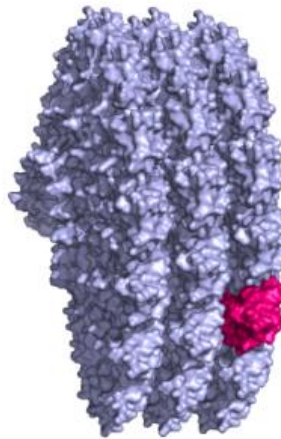
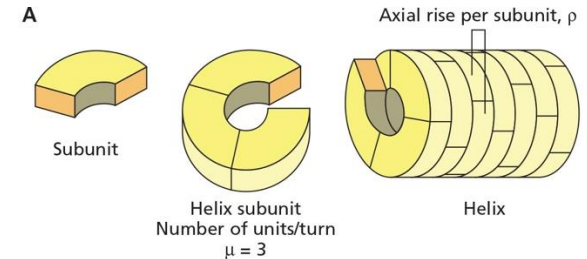
B Tobacco mosaic virus



$$\mu = 16,4$$

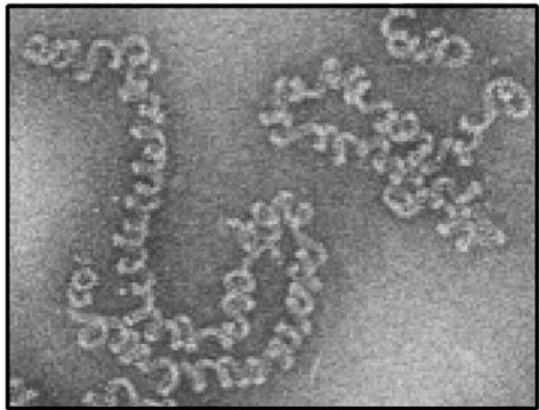
$$p = 1,4 \text{ Angström}$$

$$P = 23 \text{ Angströms}$$



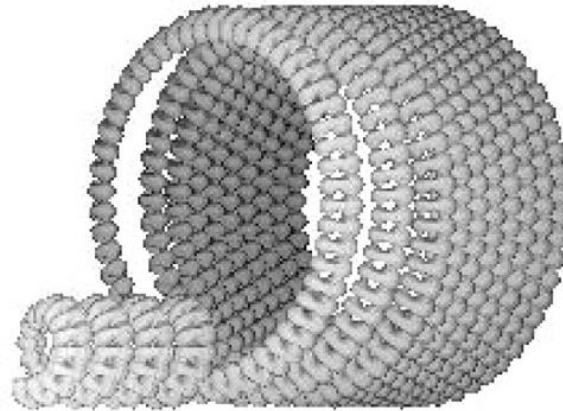
La nucléocapside des rhabdovirus

a

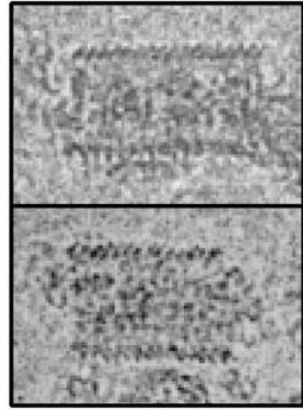


500 Å

b



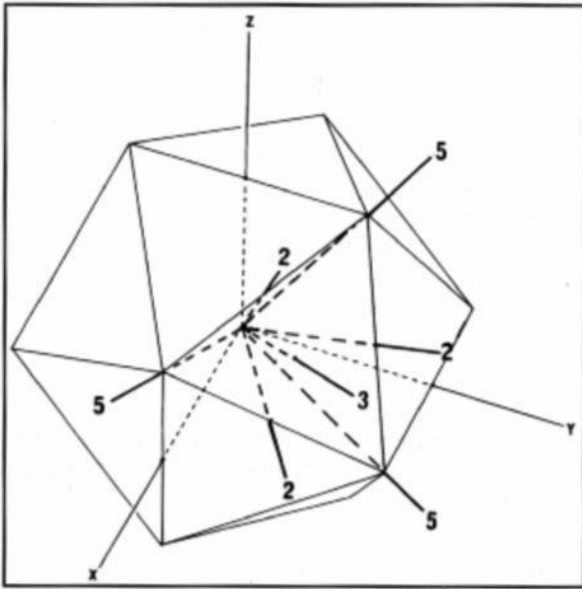
c



500 Å

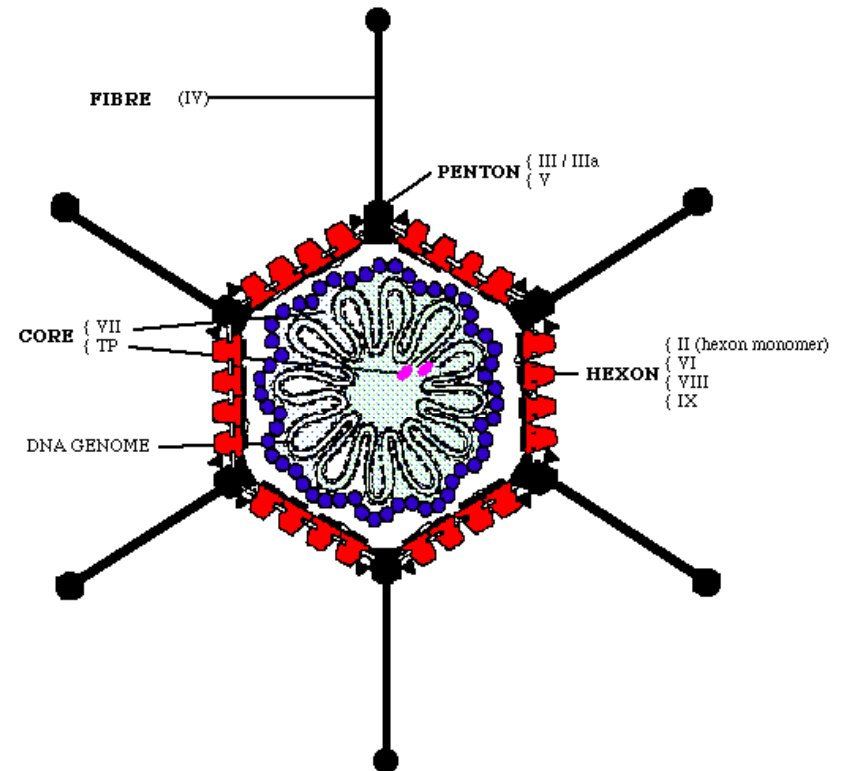
Etude par microscopie électronique

La symétrie icosaédrique



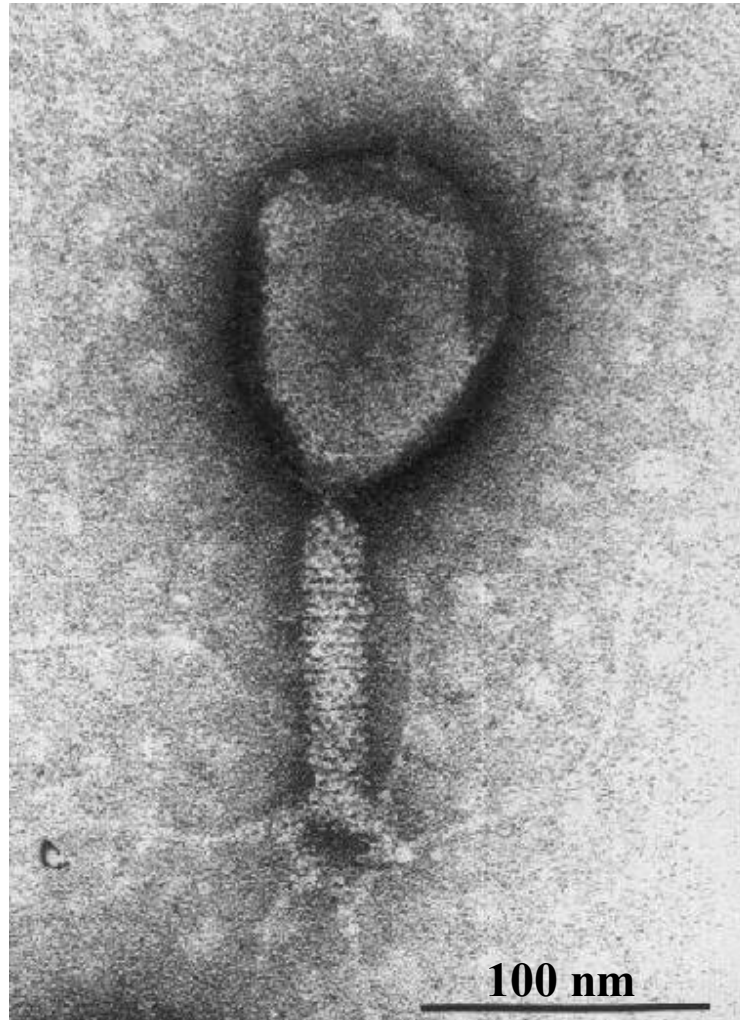
L'icosaèdre :

20 faces, 12 sommets, 30 arêtes



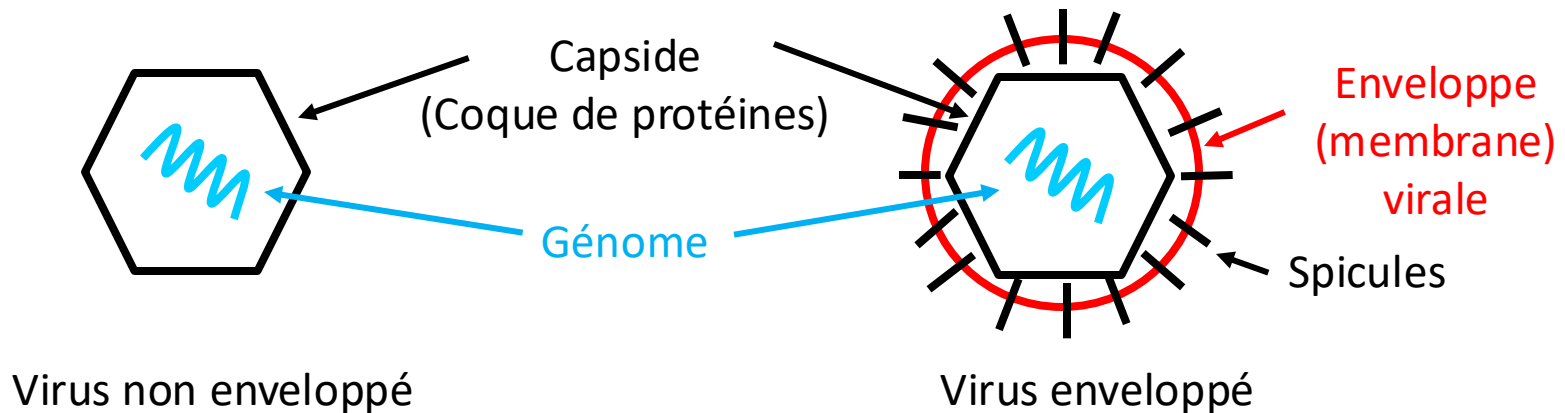
Ex : Adénovirus

Une symétrie de type mixte



Le bactériophage T4

Organisation des virus (2)

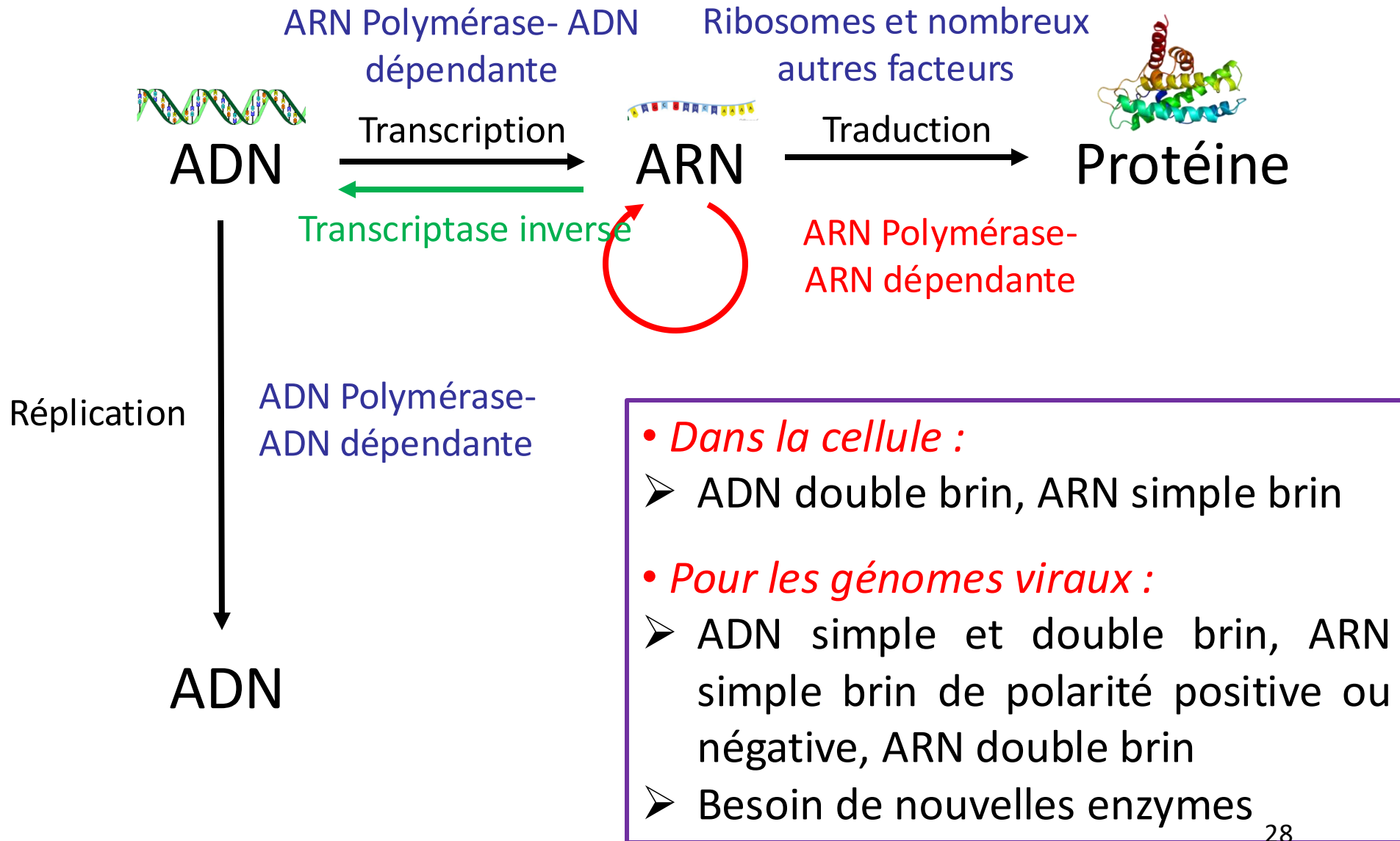


Les **génomés viraux** peuvent être constitués :

- d'ADN double brin
- d'ADN simple brin
- d'ARN simple brin
 - de polarité positive (celle des ARNm)
 - de polarité négative (antisens des ARNm)
- d'ARN double brin

=> C'est la nature de son génome qui impose au virus sa stratégie de réplication

Le dogme de la biologie



Taxonomie virale

- Connaissance d'une infime partie des virus existants
- Emergence de nouveaux virus



Le problème de la classification des virus s'est donc rapidement posé

Les bases de la classification

Initialement

- Les symptômes, les organes, les animaux atteints.
- Le mode de transmission (voies respiratoires, tractus digestif)

A partir de 1930, commencent à apparaître des informations sur la structure des virus.

Classification des virus

(Il existe plusieurs classifications)

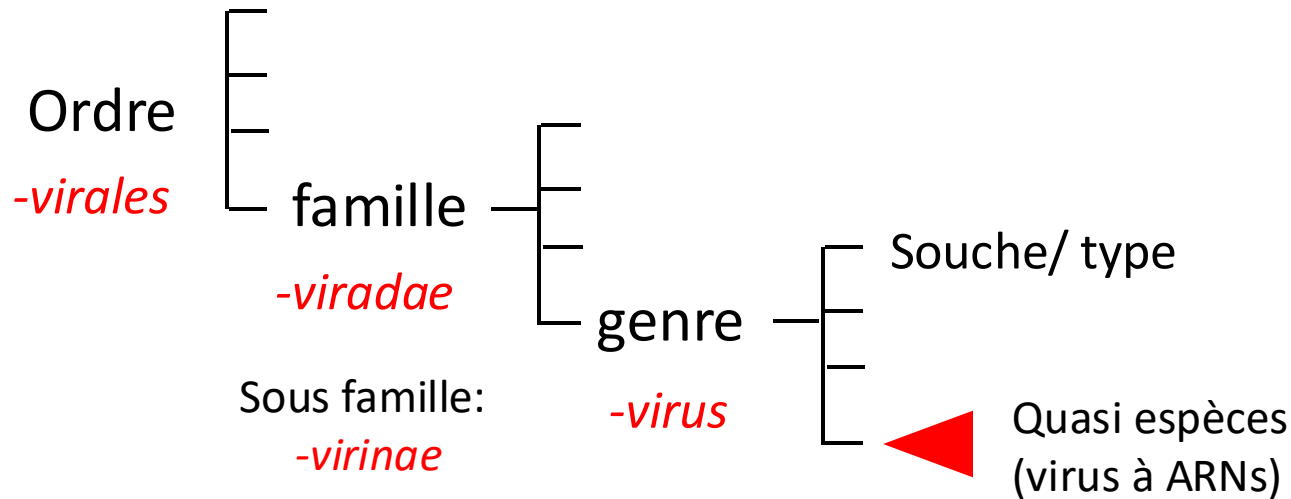
Taxonomie basée sur les propriétés des particules virales

Lwoff, Horne et Tournier (1962)

4 critères:

- La nature du génome
- La symétrie de la capside
- La présence ou l'absence d'une enveloppe
- Les dimensions (virion, capside)

Le système classique

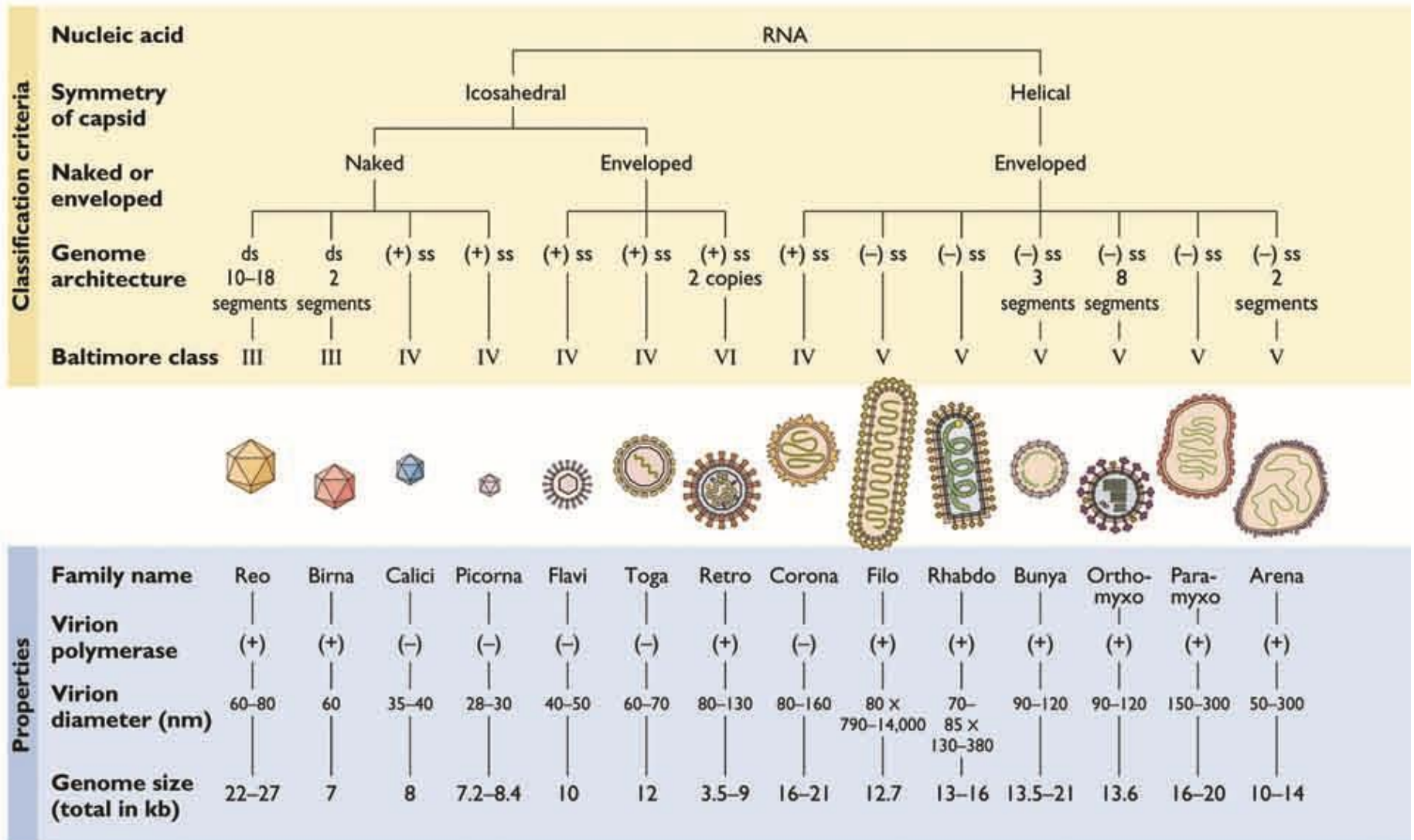


Critères de démarcation :

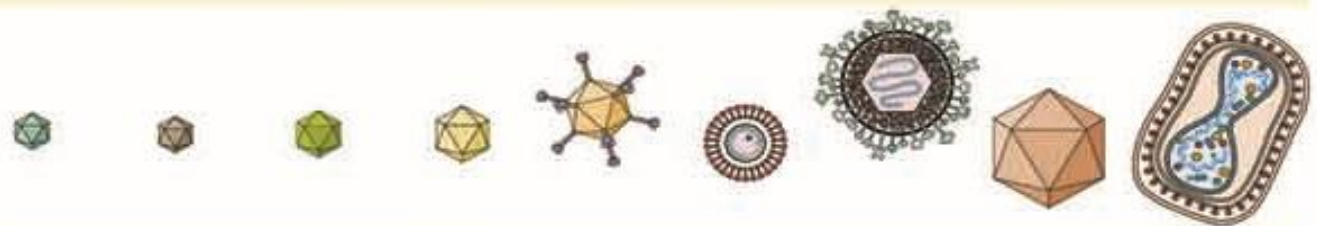
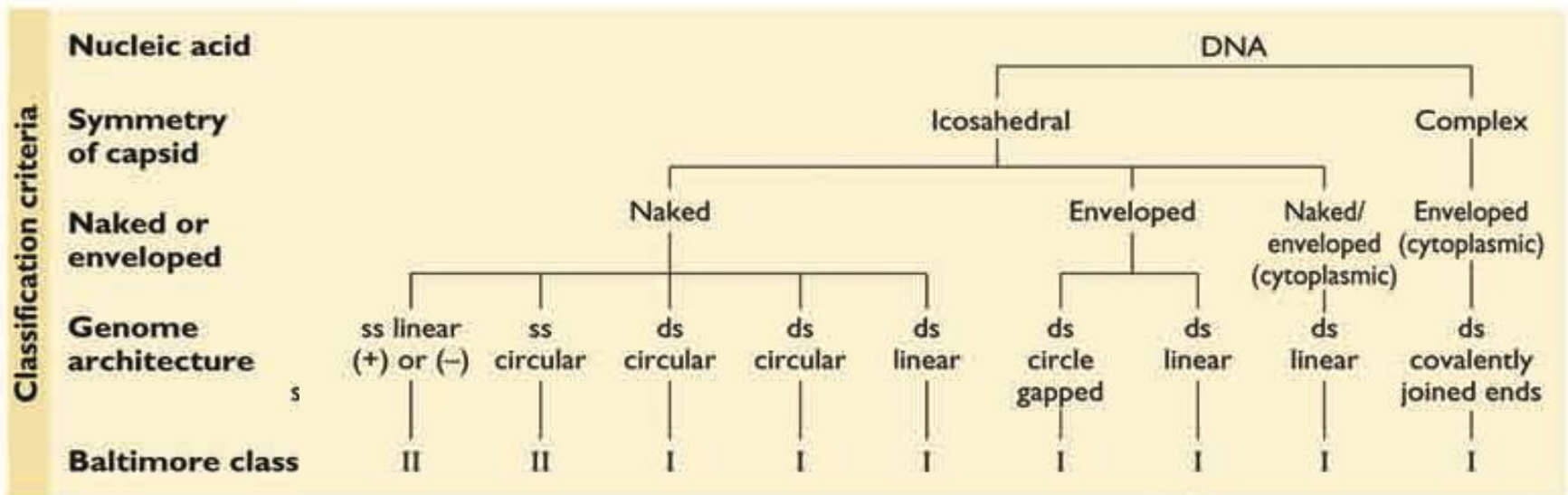
- **famille** : nature de l'acide nucléique, symétrie virale, présence ou non d'une enveloppe
- **groupes ou genres** : nombre de capsomères (si icosaédrique), diamètre de la nucléocapside (si hélicoïdale), provenance de l'enveloppe
- **espèce** : séquence génomique, hôte naturel, tropisme cellulaire, pathogénicité, mode de transmission, propriétés physico-chimiques, propriétés antigéniques...

L'ordre des *Mononegavirales*

Ordre	Famille	Sous famille	Genre	Hôte / exemple
<i>Mononegavirales</i>	<i>Paramyxoviridae</i>	<i>Paramyxovirinae</i>	<i>Paramyxovirus</i>	Vertébrés / Virus parainfluenza 1
			<i>Morbillivirus</i>	Vertébrés / Virus de la rougeole
			<i>Rubulavirus</i>	Vertébrés / Virus des oreillons
		<i>Pneumovirinae</i>	<i>Pneumovirus</i>	Vertébrés / Virus respiratoire syncytial
	<i>Rhabdoviridae</i>		<i>Lyssavirus</i>	Vertébrés / Virus de la rage
			<i>Vesiculovirus</i>	Vertébrés / Virus de la stomatite vésiculaire
			<i>Ephemerovirus</i>	Vertébrés / Virus de la fièvre éphémérale bovine
			<i>Cytorhabdovirus</i>	Plantes / Virus des jaunes nécrotiques de la laitue
			<i>Nucleorhabdovirus</i>	Plantes / Virus du rabougrissement jaune de la patate
	<i>Filoviridae</i>		<i>Filovirus</i>	Vertébrés / Virus d' Ebola



Classification de Lwoff, Horne et Tournier



Properties	Family name	Parvo	Circo	Polyoma	Papilloma	Adeno	Hepadna	Herpes	Irido	Pox
	Virion polymerase	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(+)	(-)	(-)	(+)
	Virion diameter (nm)	18-26	12-26	40	55	70-90	42	150-200	125-300	170-200 x 300-450
	Genome size (total in kb)	5	1.8-2.3	5	7-8	36-38	3.2	120-200	150-350	130-280

Classification de Lwoff, Horne et Tournier

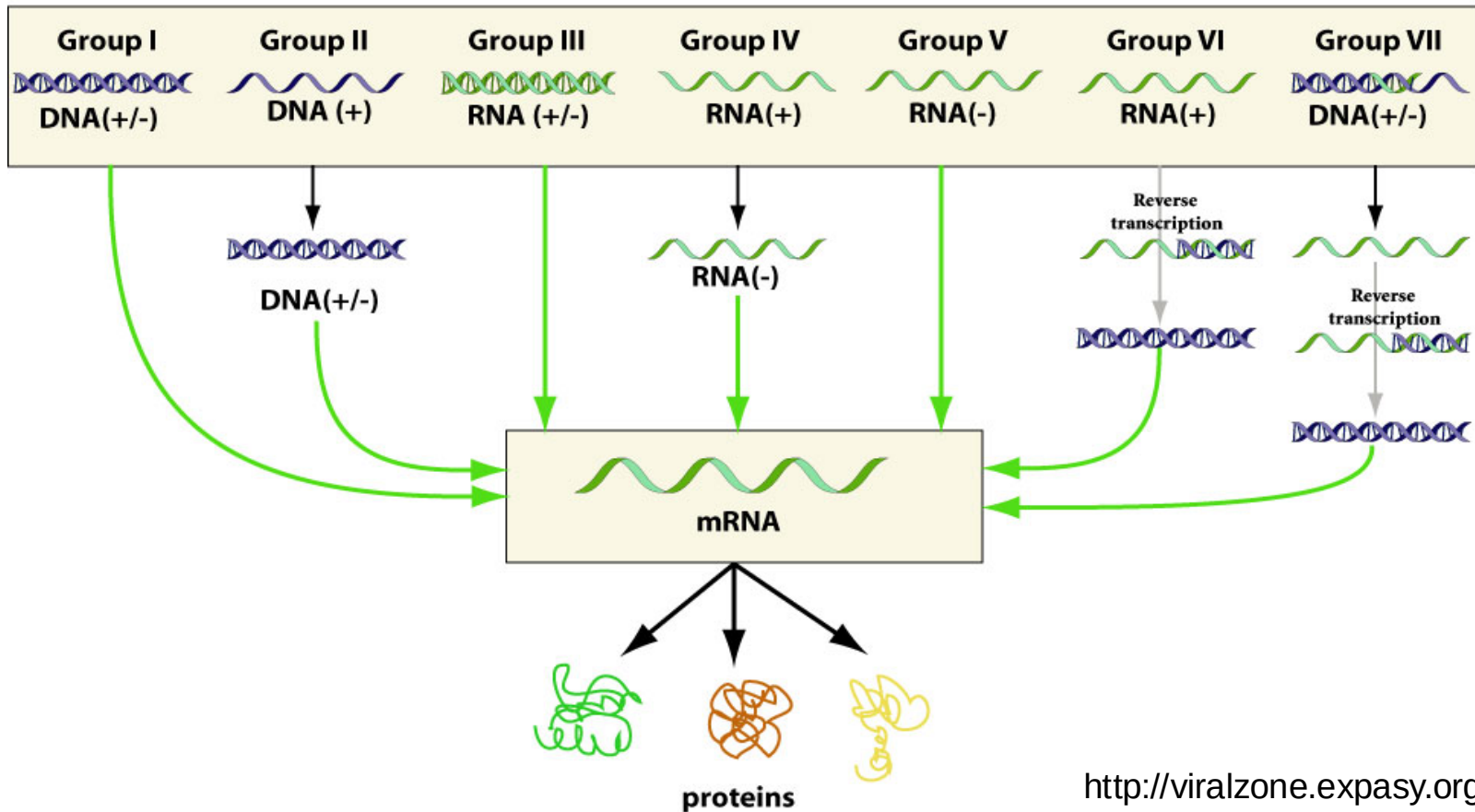
La classification de Baltimore

Basée sur :

- la **nature du génome** des virus
(ADN ou ARN ; simple brin, double-brin...)
- et son **mode d'expression** = étape(s) requise(s) pour la synthèse d'ARN messager viral

Permet de classer en fonction des stratégies d'expression des gènes précoces

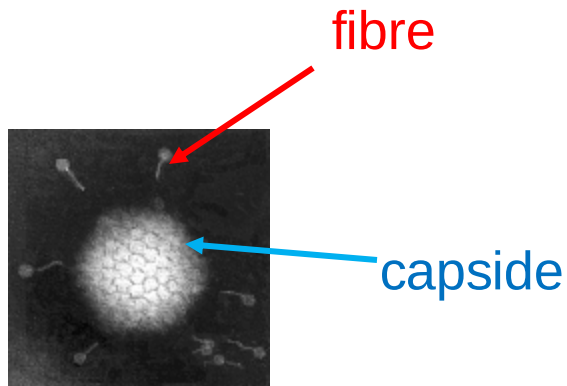
Genetic material present in the virion



<http://viralzone.expasy.org/>

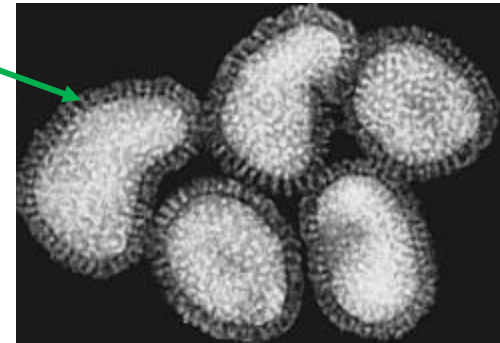
Rappel : par convention ARNm est de polarité +

Quelques virus

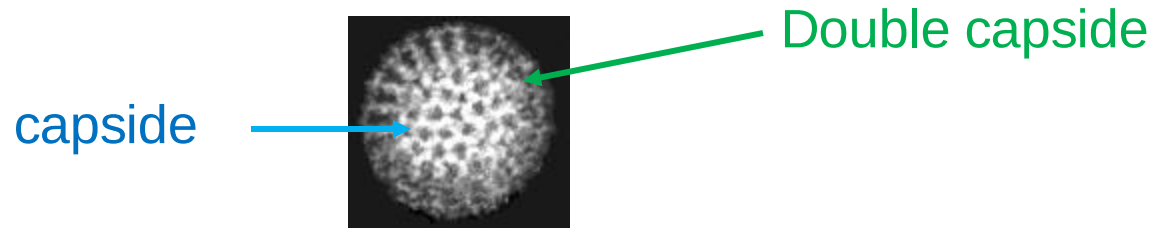


ADENOVIRUS
ADNdb linéaire
non segmenté

enveloppe



INFLUENZA VIRUS
Plusieurs segments
ARN linéaire



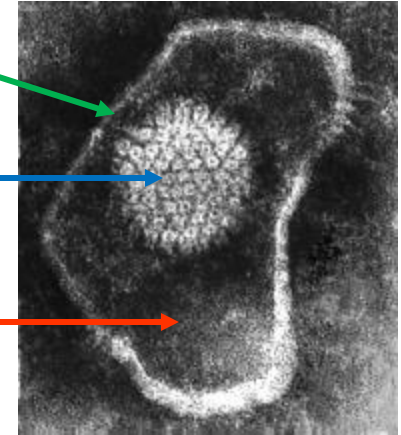
ROTAVIRUS
11 segments d'ARNdb

Quelques virus

enveloppe

capside

tégument



HERPESVIRUS

ADN db linéaire
enveloppé

Enveloppe vide

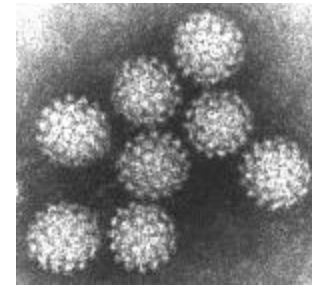
capside

enveloppe



VIRUS DE L'HEPATITE B

ADN db circulaire
enveloppé



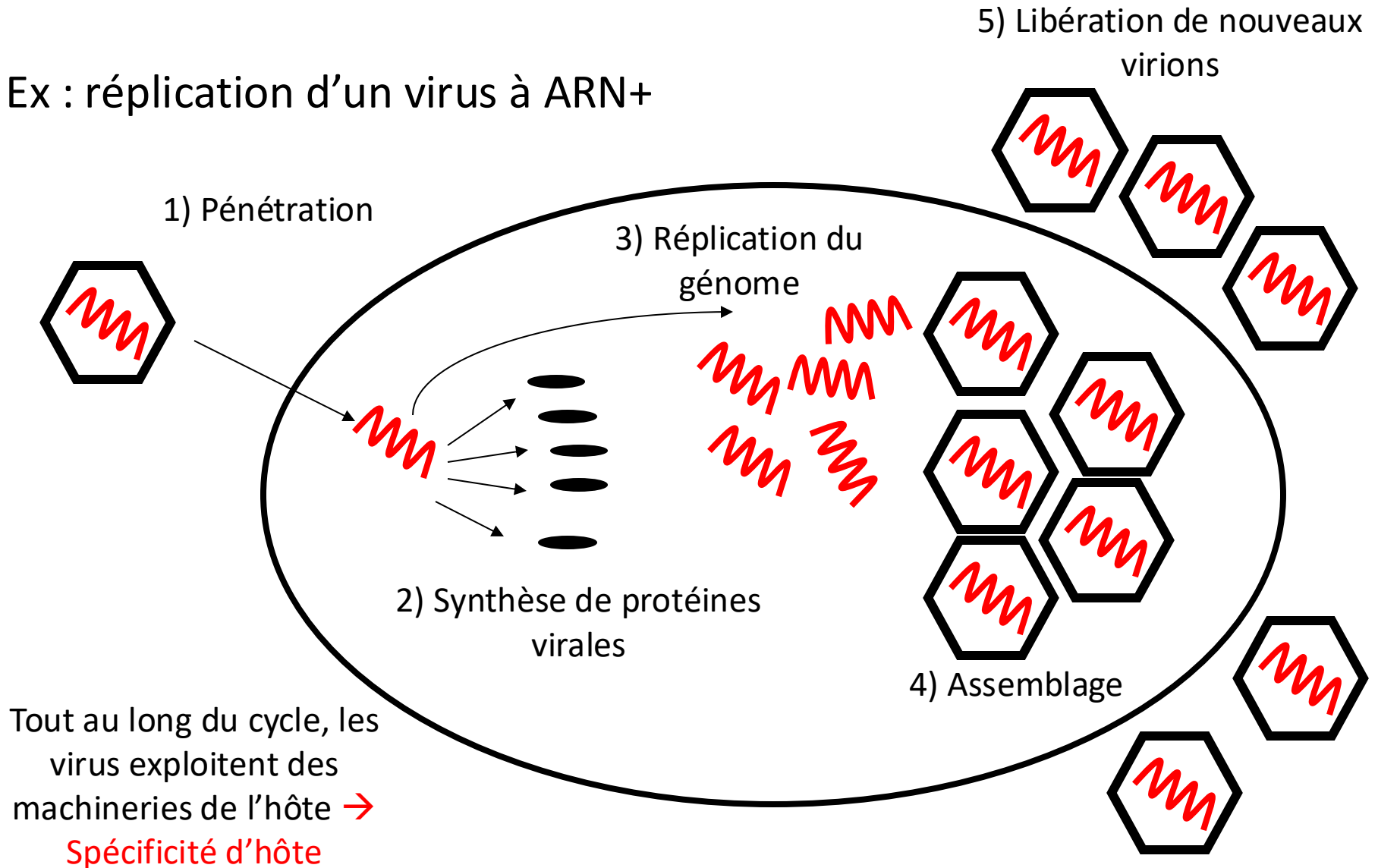
PAPILLOMAVIRUS

ADN db circulaire
non enveloppé

Virus et cycle viral

Rq : Les virologues divisent les cycles infectieux en **étapes** pour faciliter leur étude, mais ces « frontières » (artificielles) n'existent pas

Ex : réplication d'un virus à ARN+



Spécificité d'hôte

- Le spectre d'hôte d'un virus est défini par les tissus cellulaires et les espèces qu'il peut infecter.
- Il varie considérablement d'un virus à l'autre : il peut être large ou extrêmement réduit.
- C'est la capacité du virus à interagir avec la cellule hôte qui détermine sa spécificité.

Spécificité d'hôte

- Quelques exemples :

➤ **Un virus n'infecte pas toutes les espèces**

- Certains virus n'infectent qu'un hôte :

Virus de l'hépatite B : homme

- Certains virus infectent plusieurs hôtes :

Virus de la rage : mammifères

Virus de la Dengue : moustique et (kératinocytes) mammifère

➤ **Chez un même individu, un virus n'infecte pas tous les types cellulaires**

- Un virus infecte souvent un seul type cellulaire :

HBV : le foie,

le virus de la rage : les neurones,

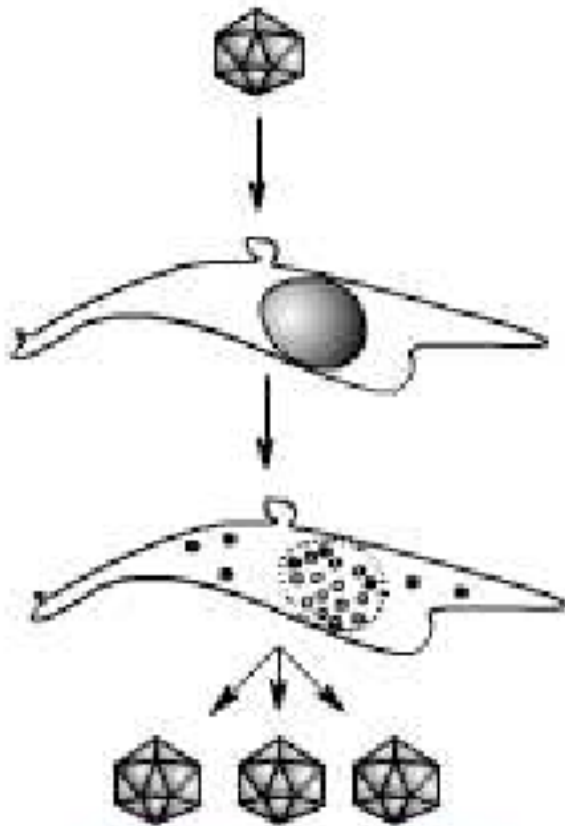
l'adénovirus : les cellules de la voie respiratoire

- Ou plusieurs : virus de l'herpes-> cellules épithéliales, neuronales

Définitions importantes

- Une **cellule sensible** a un récepteur fonctionnel pour un virus donné - *la cellule peut ou non permettre la réplication virale*
- Une **cellule résistante** n'a pas le récepteur pour un virus donné - *elle peut être ou ne pas être compétente pour la réplication virale*
- Une **cellule permissive** a la capacité de répliquer virus, elle a toutes les propriétés requise pour un cycle productif - *elle peut ou non être sensible*
- **Une cellule sensible ET permissive** est la seule cellule capable d'absorber une particule virale et de permettre sa multiplication

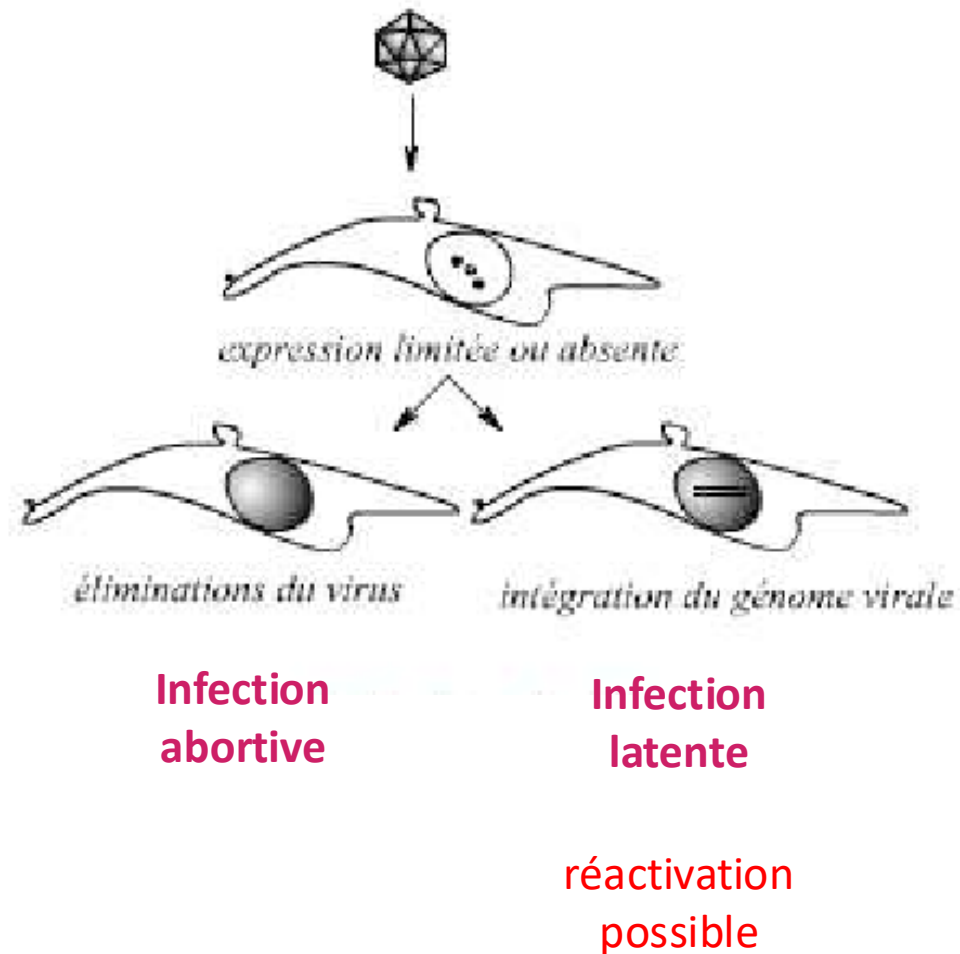
Infection productive



L'infection d'une cellule **sensible et permissive**, conduit à une **infection productive**

(la cellule a toutes les propriétés requises pour que le cycle de multiplication du virus soit **complet**)

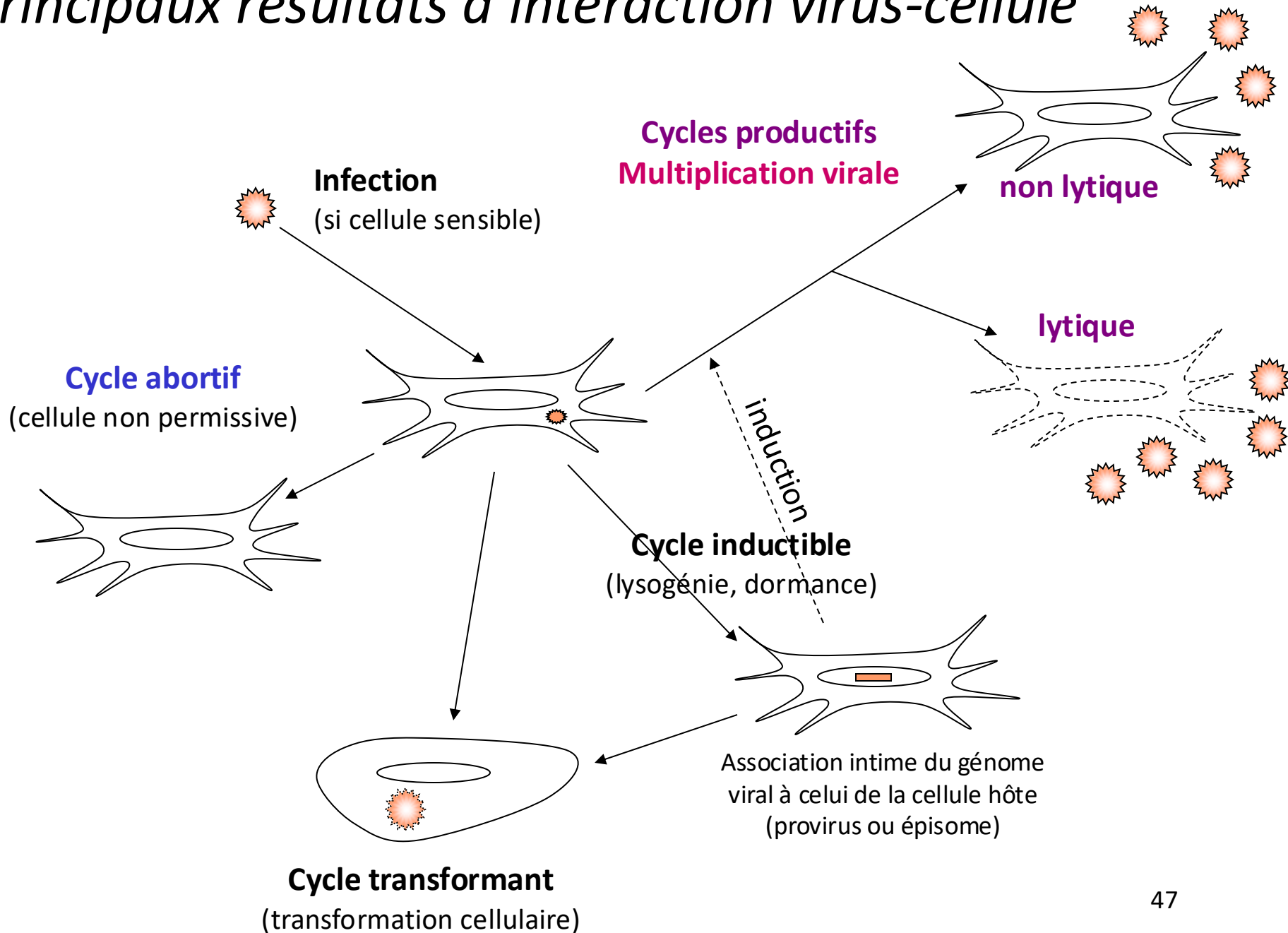
Infection abortive – Infection latente



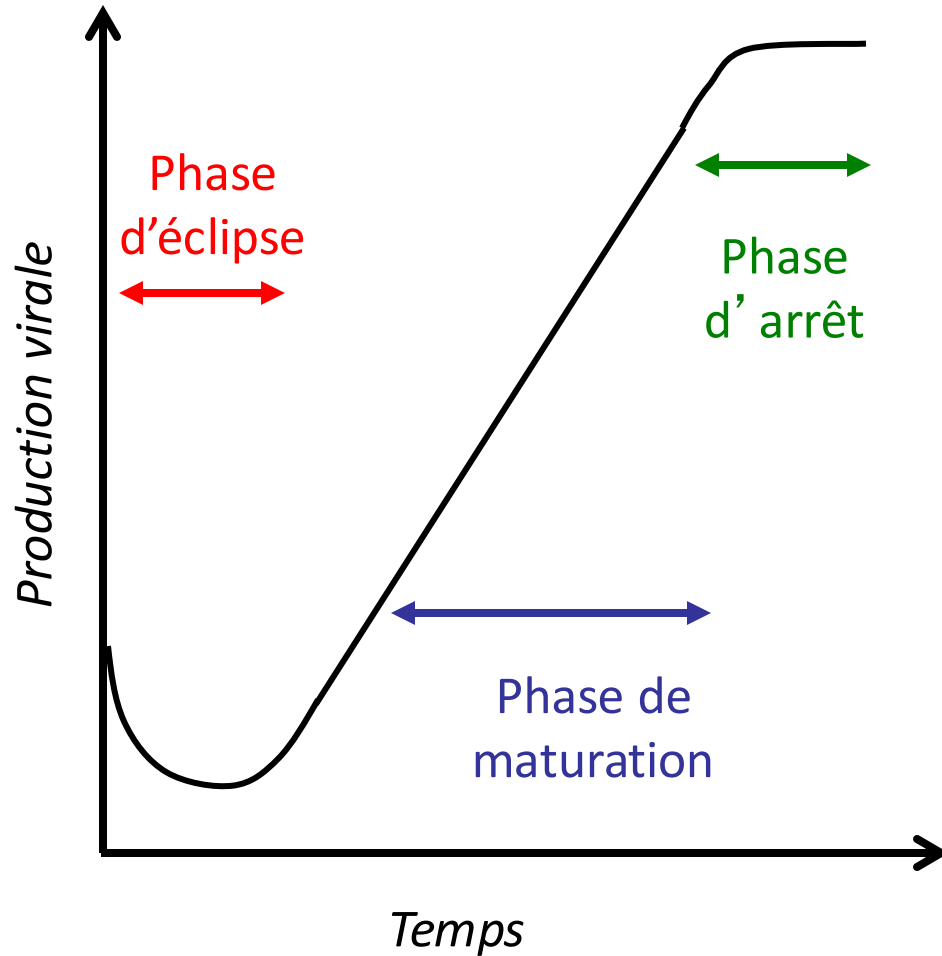
Une **infection abortive** correspond à l'infection d'une cellule **sensible et non-permissive** qui ne permet pas l'expression de tous les gènes viraux

Au cours de l'**infection latente**, le virus ne produit pas de particules virales la plupart du temps mais est susceptible de **ré-activation**.

Principaux résultats d'interaction virus-cellule



Les étapes du cycle viral (1)



- 1 – Attachement
- 2 – Pénétration (et décapsidation)
- 3 – Expression et réplication des génomes viraux
- 4 – Assemblage et sortie

Les étapes du cycle viral (2)

1 – Attachement ou adsorption

Reconnaissance du récepteur à la surface de la cellule

2 – Pénétration et décapsidation

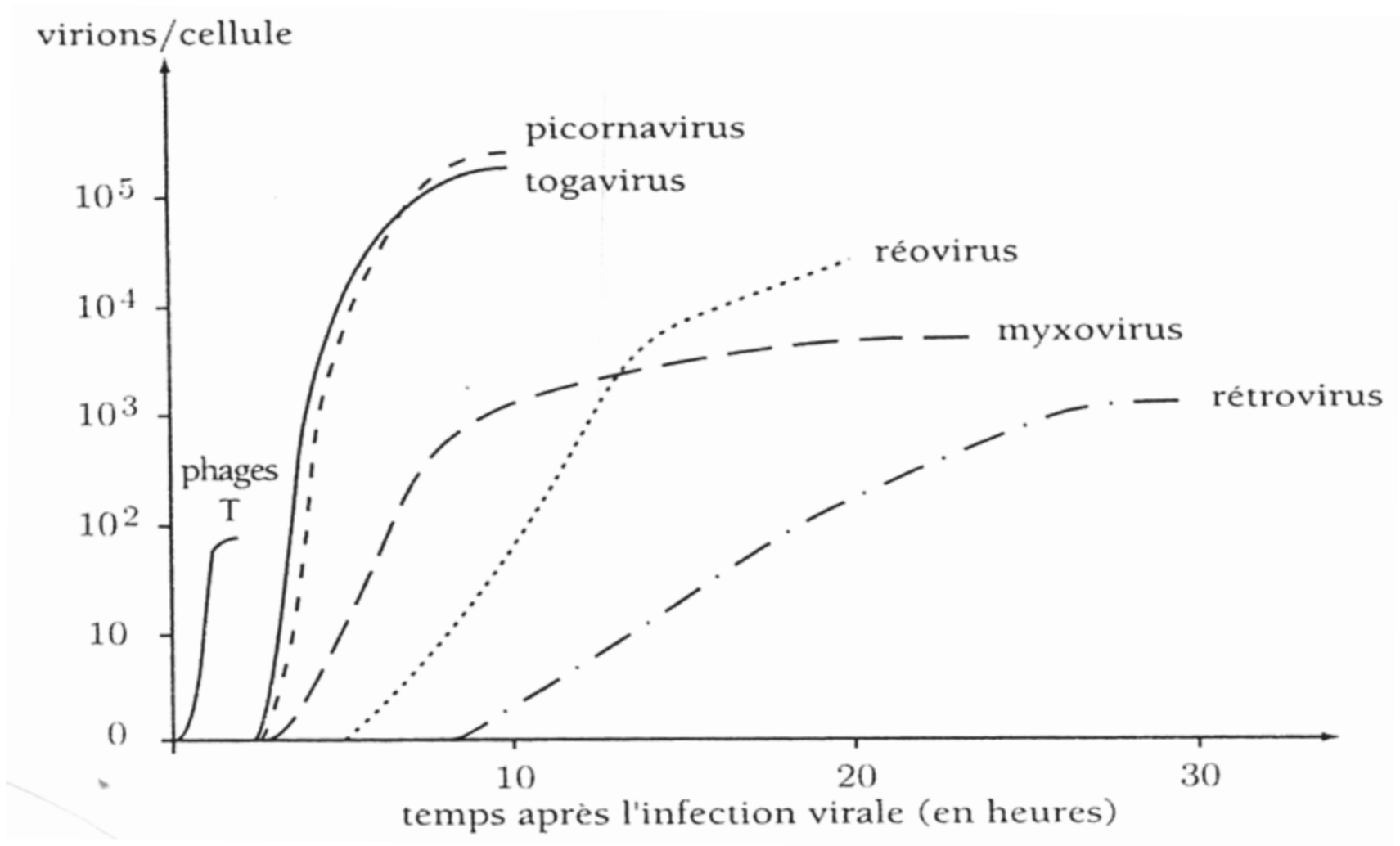
Entrée dans la cellule / (mise à nu du génome viral)

3 – Expression et réplication des génomes viraux

Synthèse des protéines virales et des génomes

4 – Assemblage et sortie

Encapsidation du génome, *acquisition de l'enveloppe*,
sortie de la cellule



Actualité des épidémies virales

Maladies récurrentes

La rougeole

Une des principales causes de décès chez les enfants en Afrique (1999 : 869000 décès; 2018 : 52600).

Nouvelles épidémies en Angleterre (et en Europe) à cause du recul de la vaccination.

La grippe

La grippe espagnole : 40-100 millions de morts.

Crainte de nouvelles épidémies : virus H5N1, H1N1 ou autre.

La Dengue

L'OMS estime à 50 millions le nombre de cas annuels, dont 500 000 cas de dengue hémorragique souvent mortels.

Virus (ré)émergents

HIV, Ebola, Hépatite C etc...

- s'agit-il de virus qui viennent d'apparaître
- ou de virus qui viennent d'être découverts ?



de virus qui viennent d'être découverts.

Pourquoi n'ont-ils pas été découverts avant ?

- pas de moyens techniques (HCV)
- pas de maladies (HIV, Ebola)

Maladies nouvelles

Le SIDA

Depuis le début de l'épidémie, 76 millions de personnes ont été infectées dans le monde. 38 millions de décès. Encore environ 1,5 millions de nouveaux cas chaque année et ~500.000 décès.

Les trithérapies ont transformé une maladie mortelle en maladie chronique.

L'hépatite C

130 à 210 millions de personnes contaminées (500 à 650000 en France). 70-80% évoluent vers une hépatite chronique. 30-50 % évoluent vers une cirrhose avec, à terme, un risque d'hépatocarcinome.

Un traitement efficace qui change la donne.

Maladies (ré)émergentes

Chickungunya

Maladie causée par un alphavirus et transmise par un moustique.

En 2006, environ un tiers de la population de l'île de la Réunion a été contaminée (Taux de mortalité $\sim 1/1000$).

Zika

Détection en 1947. Epidémie américaine démarrant dans le nord ouest brésilien en 2015.

Fièvre du Nil Occidental (West Nile fever virus)

Causée par un flavivirus, transmise par les moustiques aux oiseaux (réservoir?) et aux mammifères (chevaux en particulier).

Etats Unis (2002) : 4156 cas et 284 décès.

Des virus à surveiller (i)

Virus Ebola et virus de Marburg

Filovirus, responsables de fièvres hémorragiques et des Infections aiguës mortelles.

En 1967, 25% de mortalité dans l'épidémie européenne (Marburg) causée par des singes importés et infectés.

Episodes récurrents en Afrique. L'épidémie de 2015, la plus meurtrière, a fait officiellement 28000 malades dont 11000 décès.

Hantavirus

Bunyavirus transmis par les rongeurs causant un syndrome respiratoire aigu.

~30000 cas par an donnant un syndrome pulmonaire aux USA⁵⁶ et une fièvre hémorragique avec syndrome rénal en Europe.

Des virus à surveiller (ii)

Variole du singe (Monkeypox)

Epidémies récentes en Afrique.

République Démocratique du Congo :

500 cas en 1996-1997. 10% de décès.

Arrivée aux Etats Unis en 2004 :

81 cas suspectés dont 9 confirmés.

Hendra et Nipah

Paramyxovirus causant un syndrome respiratoire.

Le virus d'Hendra toucherait les chevaux. 6 cas humains à ce jour (4 décès).

Le virus de Nipah infecterait les porcs. 40% des malades hospitalisés sont décédés.

Virus éradiqués

Eradication :

1977 : la variole (OMS)

2011 : virus de la peste bovine (FAO)

en cours :

- la poliomyélite : en 2020, encore 2 pays
- rougeole, Hépatite B...

Conditions à remplir :

Avoir un bon vaccin

Spectre limité à un seul hôte (humain ou animal)

Biologie cellulaire et immunologie des infections virales

PLAN

I/ Introduction, définition virus, cycle viral

II/ Interaction cellule hôte - virus

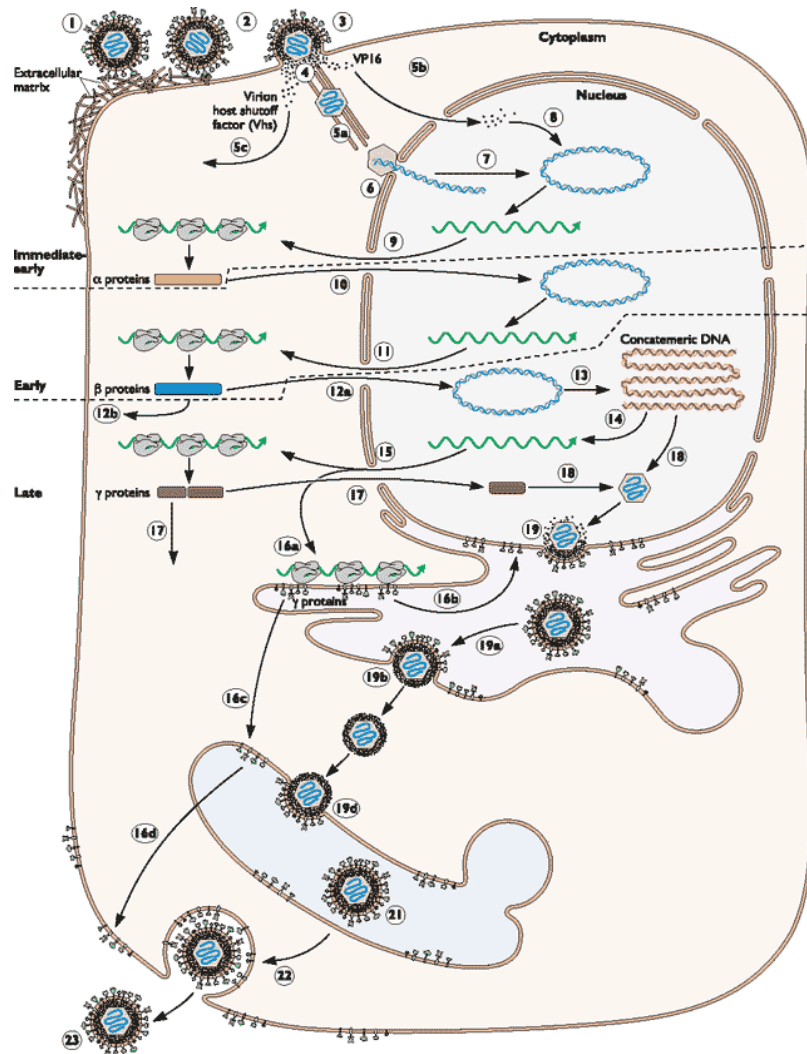
- Entrée des virus dans une cellule
- Réplication et expression des génomes
- Sortie des virus

III/ Interaction système immunitaire - virus

Echappement des virus au système immunitaire

IV/ Vaccination et Virologie appliquée

Interactions Virus-Hôtes



Un virus se multiplie dans une cellule

Il doit entrer dans la cellule

Il doit sortir de la cellule

Les particules virales ne peuvent pas diffuser à travers la membrane plasmique.

Entrée virale

- Récepteurs viraux
- Voies d'endocytose exploitées par les virus
- Les virus non enveloppés perforent une membrane cellulaire
- Les virus enveloppés libèrent leur génome par fusion membranaire

Récepteurs viraux

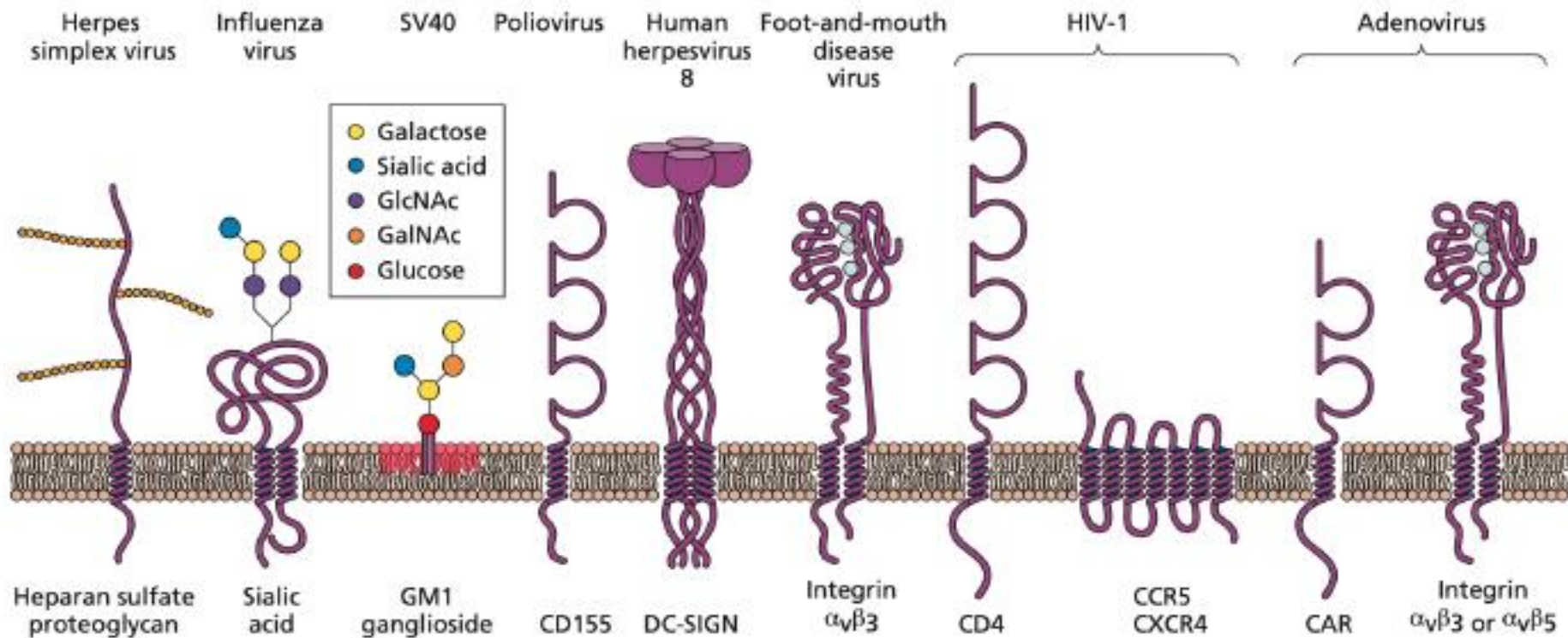
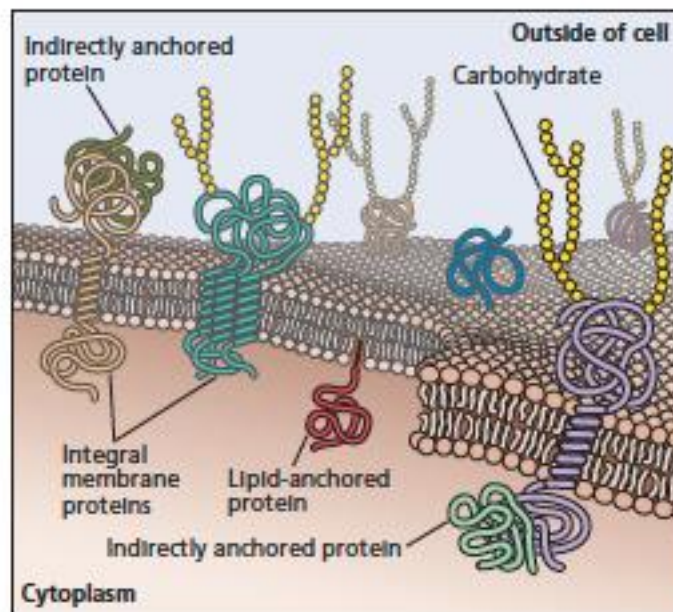
Essentiels pour tous les virus, sauf ceux des champignons (pas de phases extracellulaires) et des plantes (pénètrent dans les cellules par des dommages mécaniques).

Entrée virale

Le challenge : trouver le « bon » récepteur

- Etape 1: contact avec la surface cellulaire (interactions électrostatiques / collision aléatoire)
Non spécifique
- Etape 2 : Attachement / Récepteur(s) spécifique(s) = molécules à la surface cellulaire.
Spécifique
- Etape 3 : Transfert du génome à l'intérieur de la cellule

Récepteurs viraux



Attachement – récepteurs (1)

- Les récepteurs sont des molécules situées à la surface de la cellule, qui ont une fonction utile à la vie de la cellule, que les virus ont détournés à leur profit.
- Le récepteur peut être une protéine, un sucre, un lipide complexe.
- La protéine du virus qui interagit avec le récepteur est l'anti-récepteur.

Attachement – récepteurs (2)

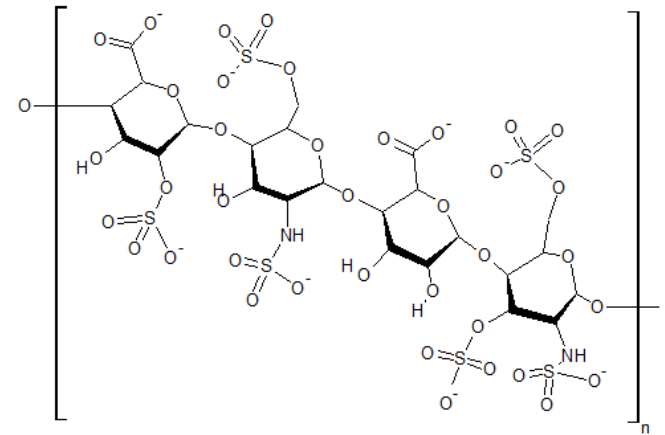
- La plupart des virus ont des récepteurs qui leur sont propres.
- Les différents types cellulaires n'ont pas les mêmes molécules à leur surface : la nature du récepteur est en grande partie responsable du **tropisme viral**.
- Une cellule qui ne possède pas le récepteur du virus ne peut pas être infectée (cellule résistante).

La 1^{ère} étape : reconnaissance de la cellule hôte

Facteurs d'attachement:

- Ils concentrent le virus à la surface de la cellule.

Exemple : les glycosaminoglycanes (GAGs) qui sont de longs polysaccharides linéaires faits d'une répétition d'unités disaccharidiques.



Sulfate d'héparane

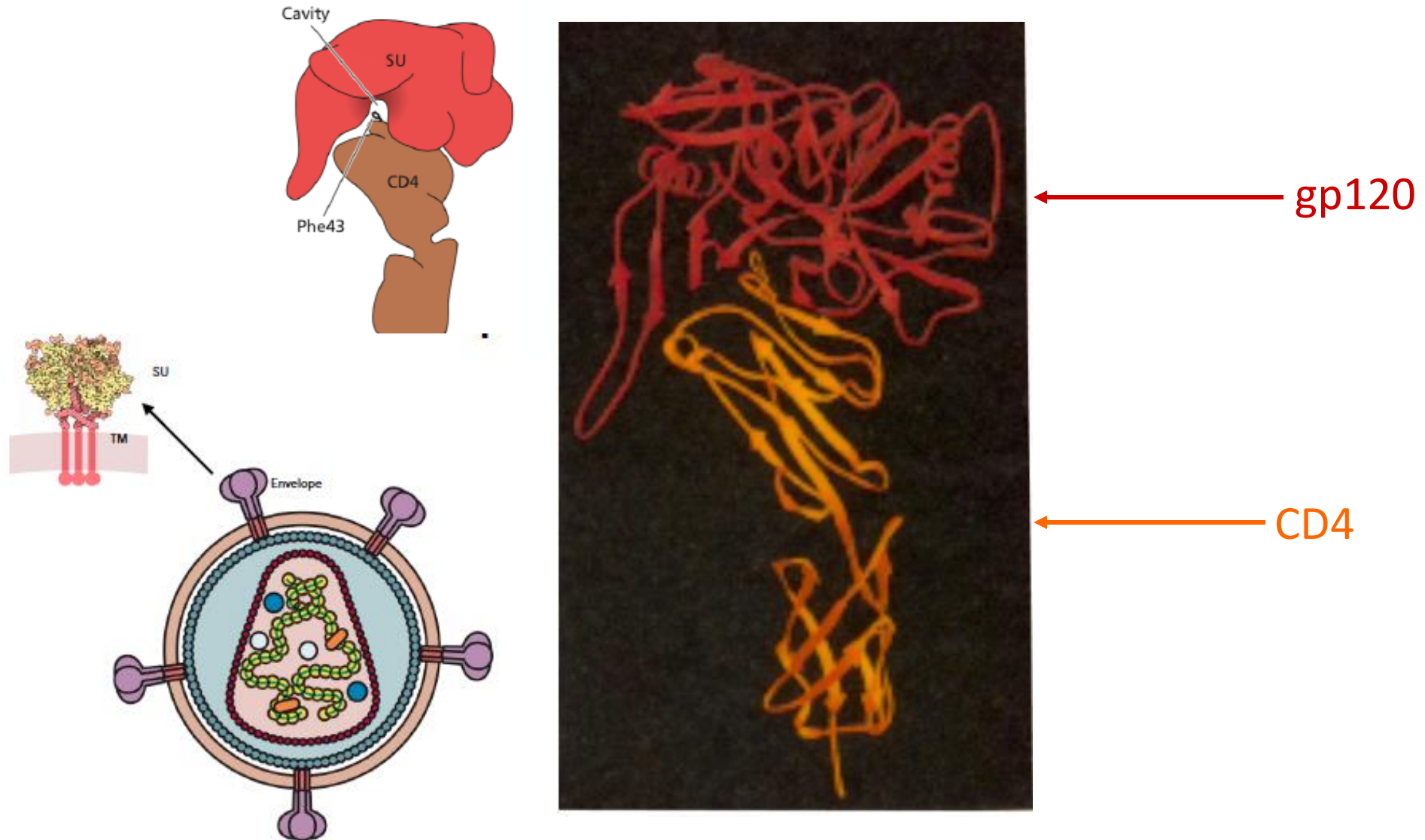
Recepteurs:

- Ils déclenchent des changements dans le virion.
- Ils induisent des signalisations cellulaires.
- Ils déclenchent l'endocytose.
- Ils accompagnent le virion dans la cellule.

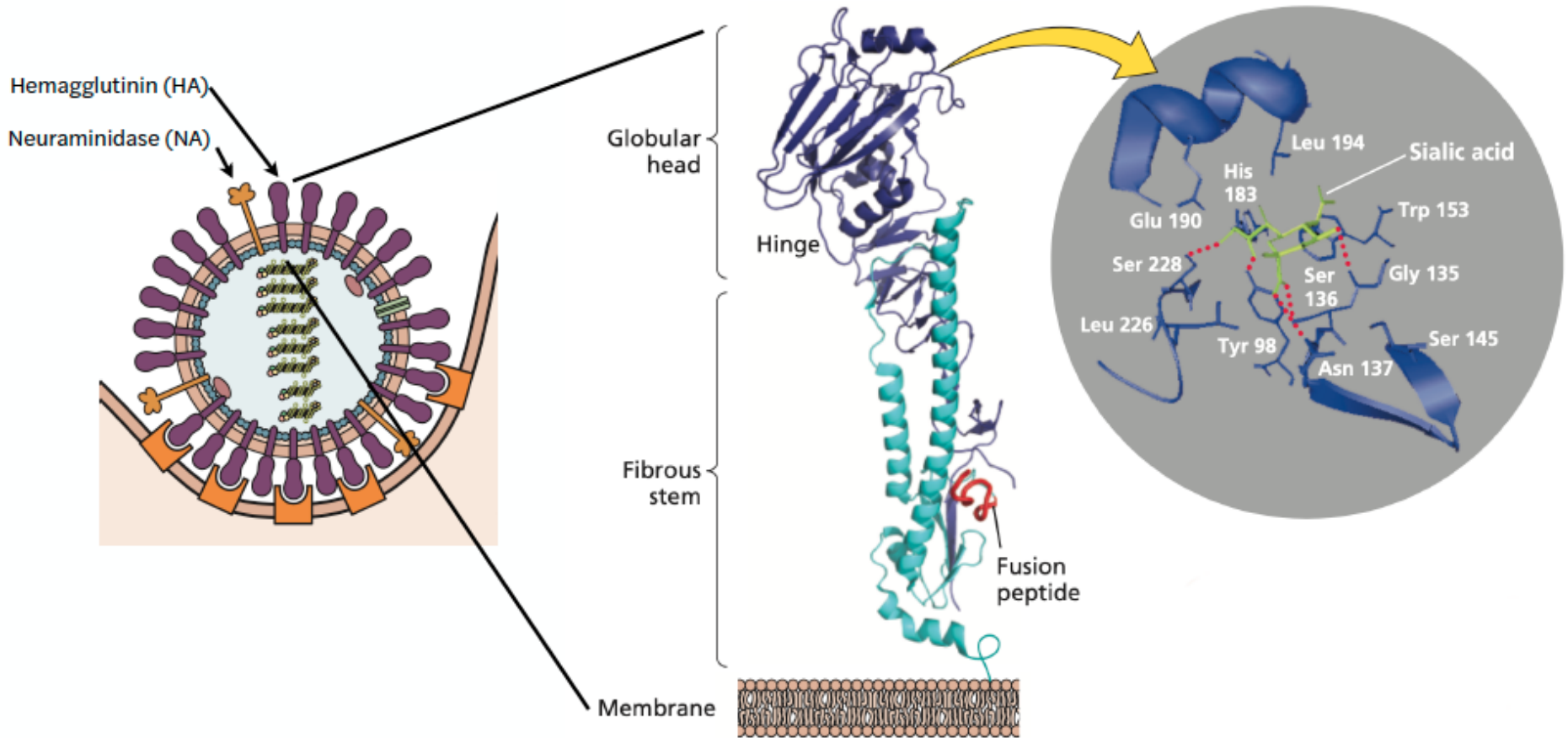
Bases moléculaires de la reconnaissance des récepteurs

- Les structures des protéines virales reconnaissant les récepteurs révèlent la présence de poches, de dépressions ou de canyons qui peuvent accommoder une partie du récepteur.
- La surface de contact est une bonne indication de l'affinité.

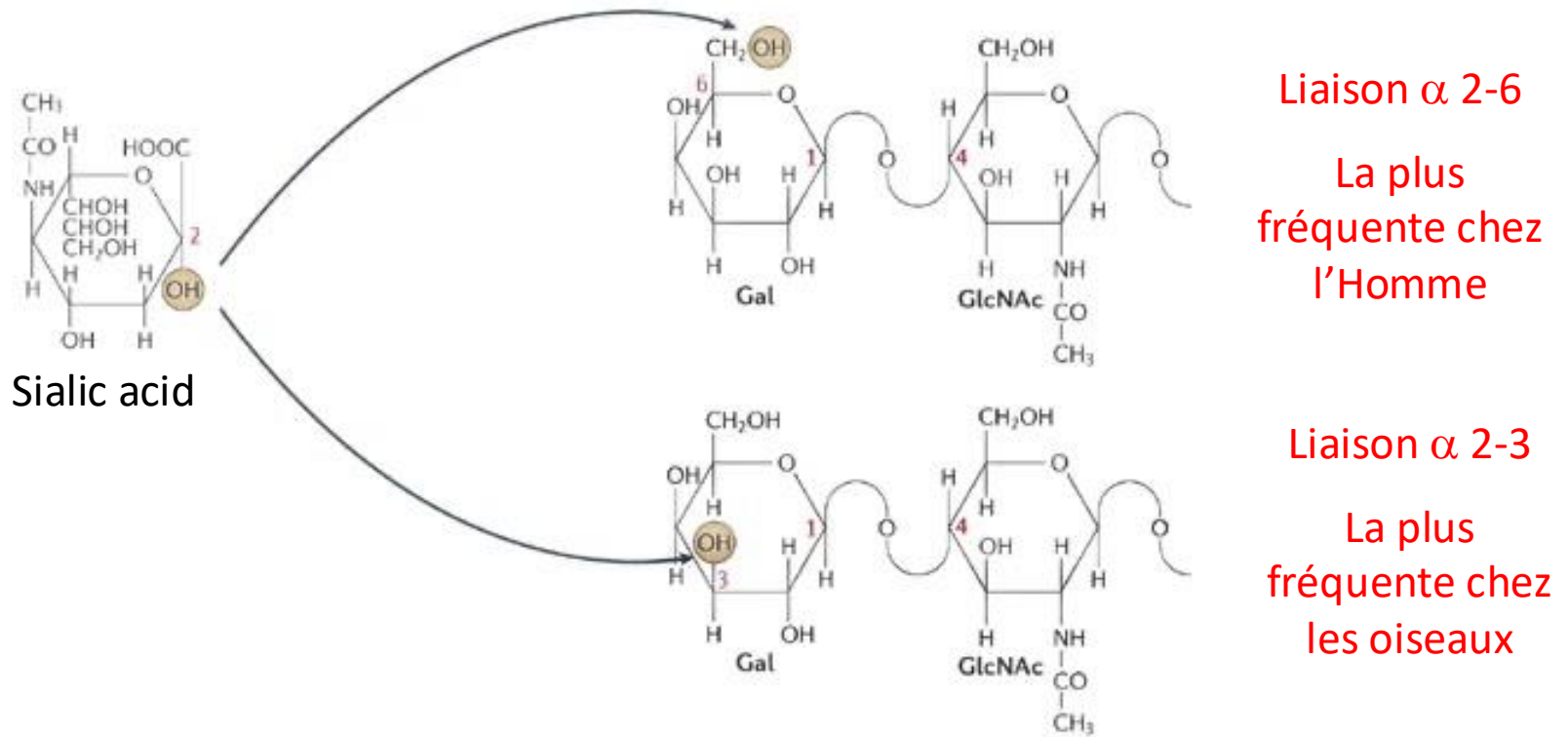
Interaction entre gp120 du VIH et CD4



Interaction entre HA du virus de la grippe et l'acide sialique

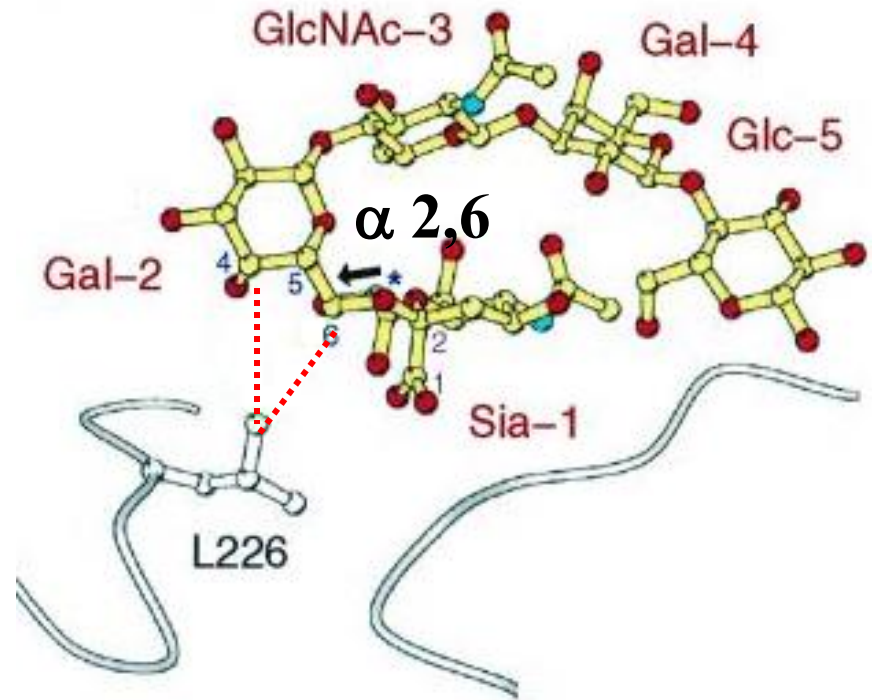
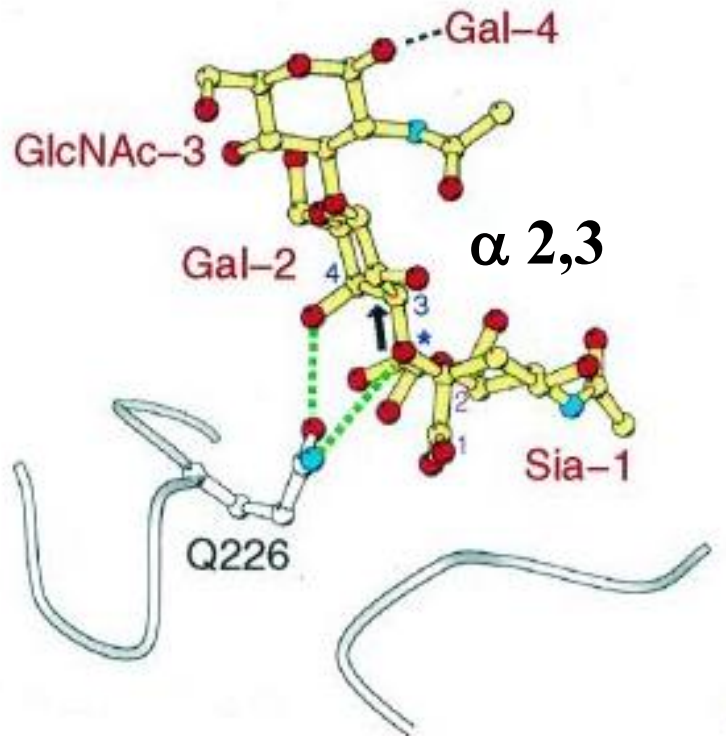


Le récepteur du virus de la grippe et la barrière d'espèces.



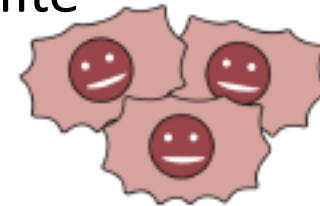
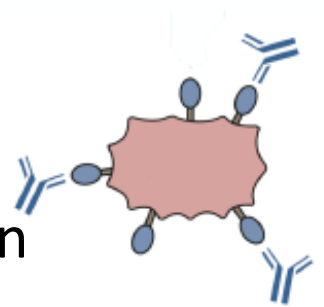
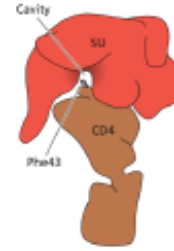
Chez les porcs, les deux liaisons sont présentes.

Résidus clefs dans l'interaction



Critères d'identification des récepteurs cellulaires pour les virus

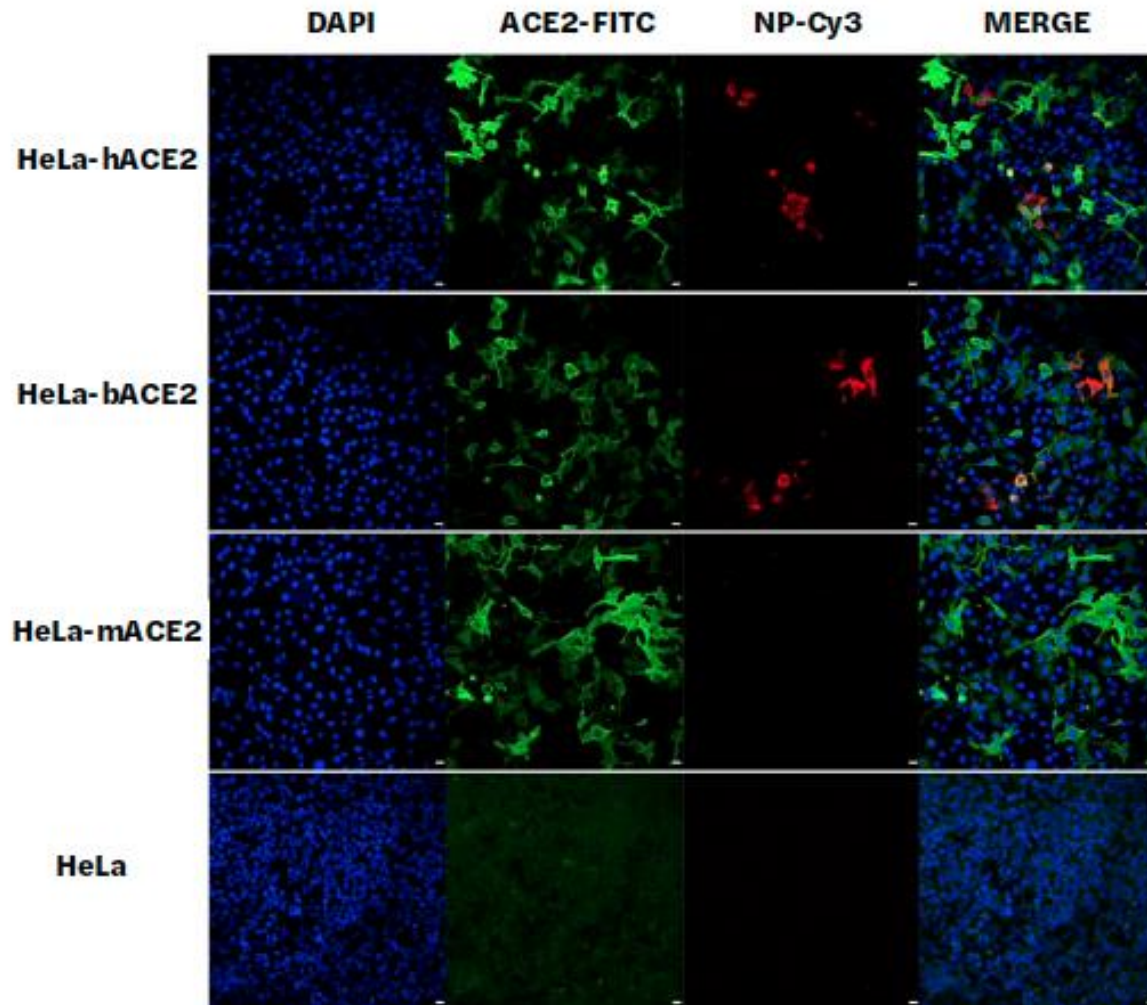
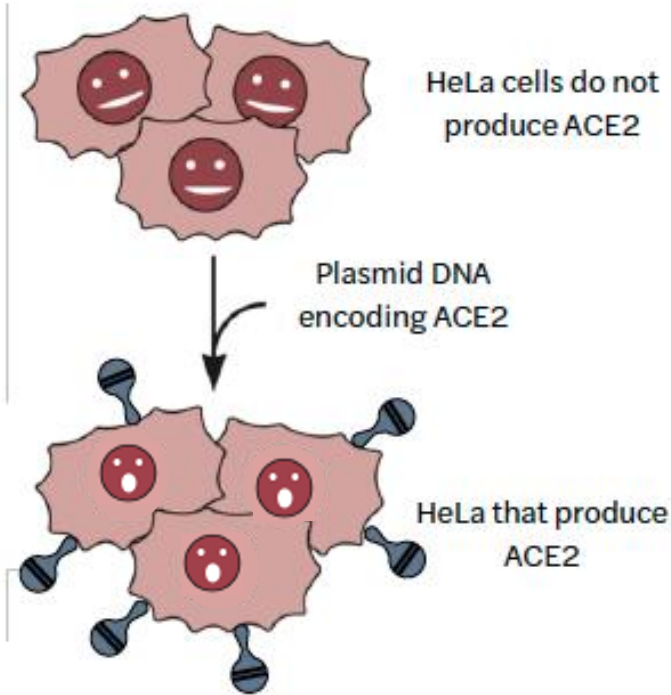
- Le récepteur se lie à la particule virale
- Un anticorps dirigé contre le récepteur bloque l'infection
- Le gène du récepteur confère la susceptibilité
(Plusieurs récepteurs peuvent être impliqués)
- La perturbation du gène du récepteur bloque l'infection



Add genomic or cloned DNA from cells that express receptor



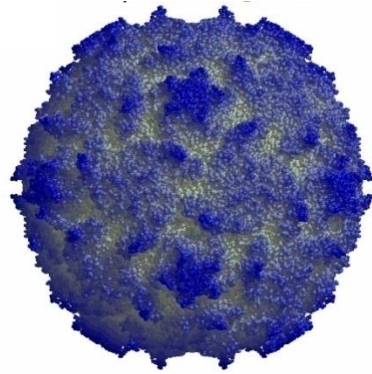
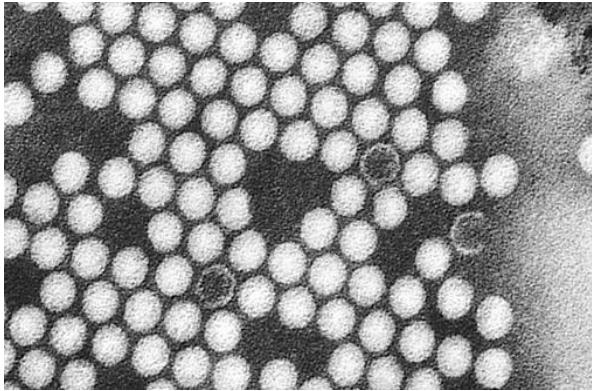
ACE2 est un récepteur du SARS-CoV2



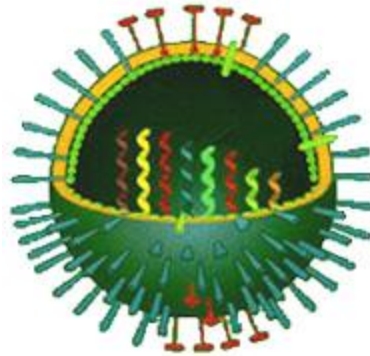
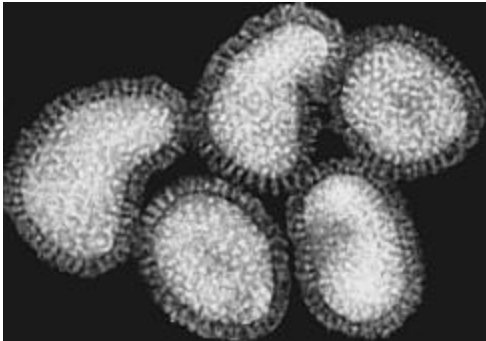
<https://www.nature.com/articles/s41586-020-2012-7>

Voies endocytiques et endocytose des virions

Virus enveloppés et non enveloppés



Formation d'un
pore ou lyse de la
membrane

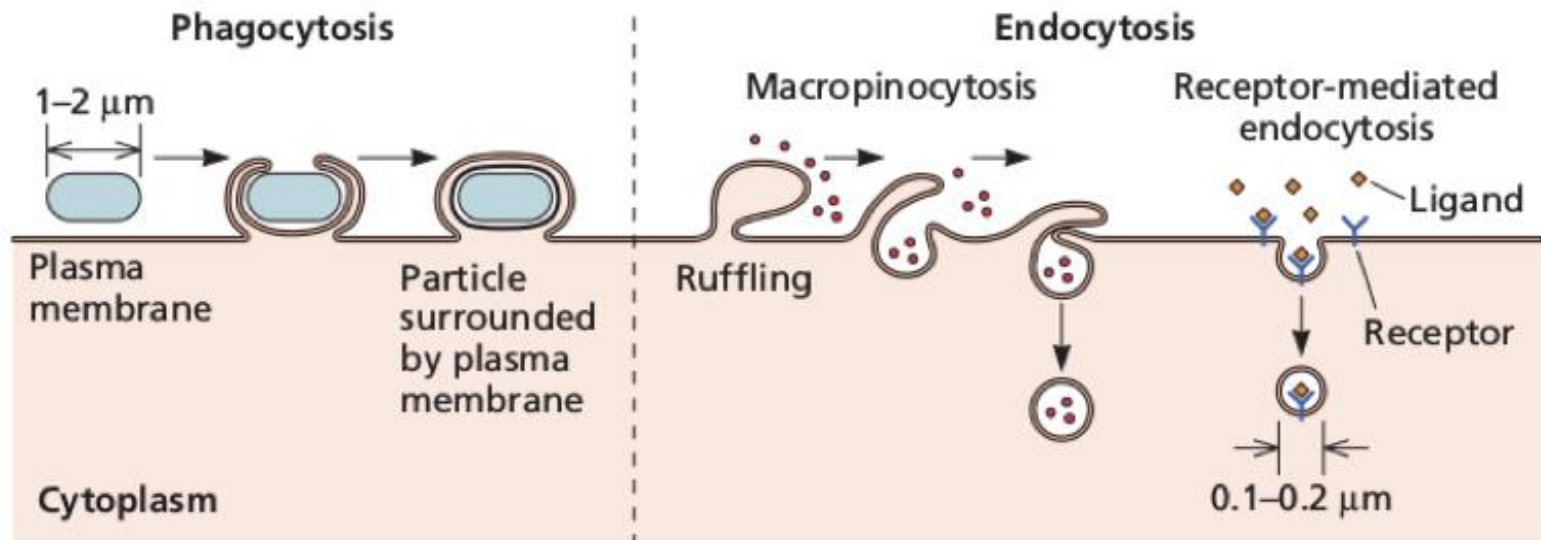


Fusion
membranaire

Les mécanismes d'endocytose

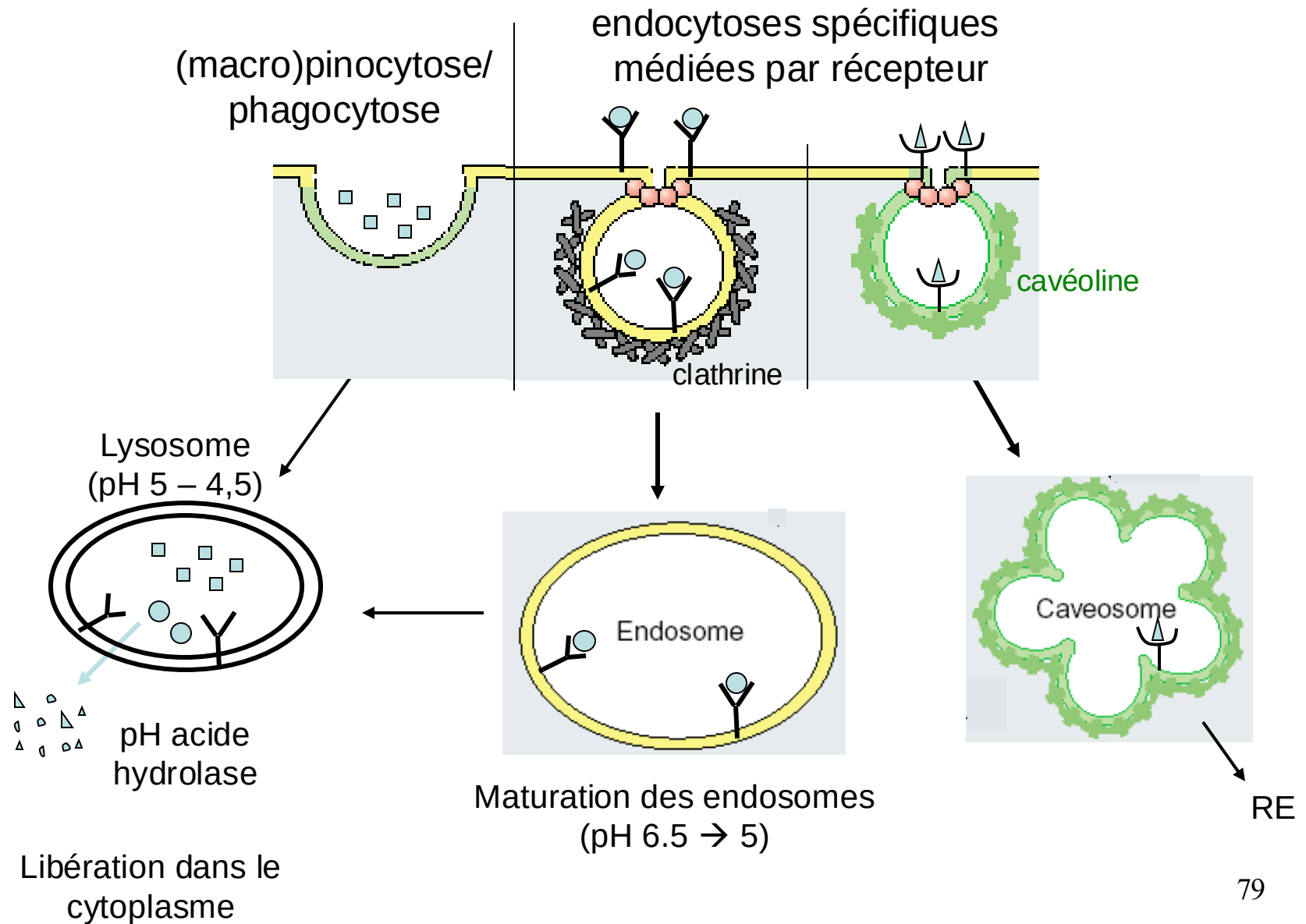
Définition

= ingestion de matériau par une cellule grâce à une invagination de la membrane plasmique et à son internalisation par une vésicule limitée par une membrane.



Adapted from J. Darnell et al., *Molecular Cell Biology*

Les mécanismes d'endocytose



Endocytose médiée
par la clathrine

Endocytose médiée
par la **cavéoline**
(protéine de 21 kDa)

clathrine

cavéoline

lysosome ←

Endosome

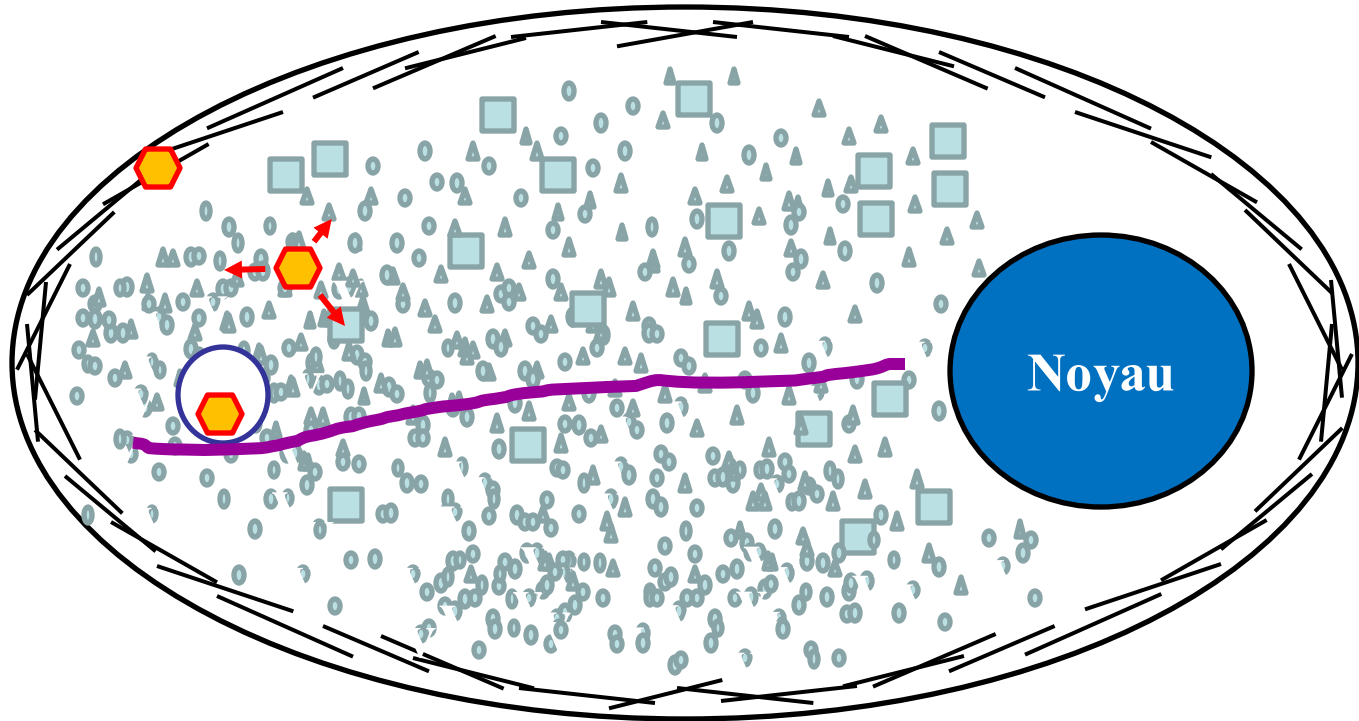
Caveosome

→ Réticulum
endoplasmique

- Clathrine
- Dynamine
- pH acide
- Actine indépendant ?

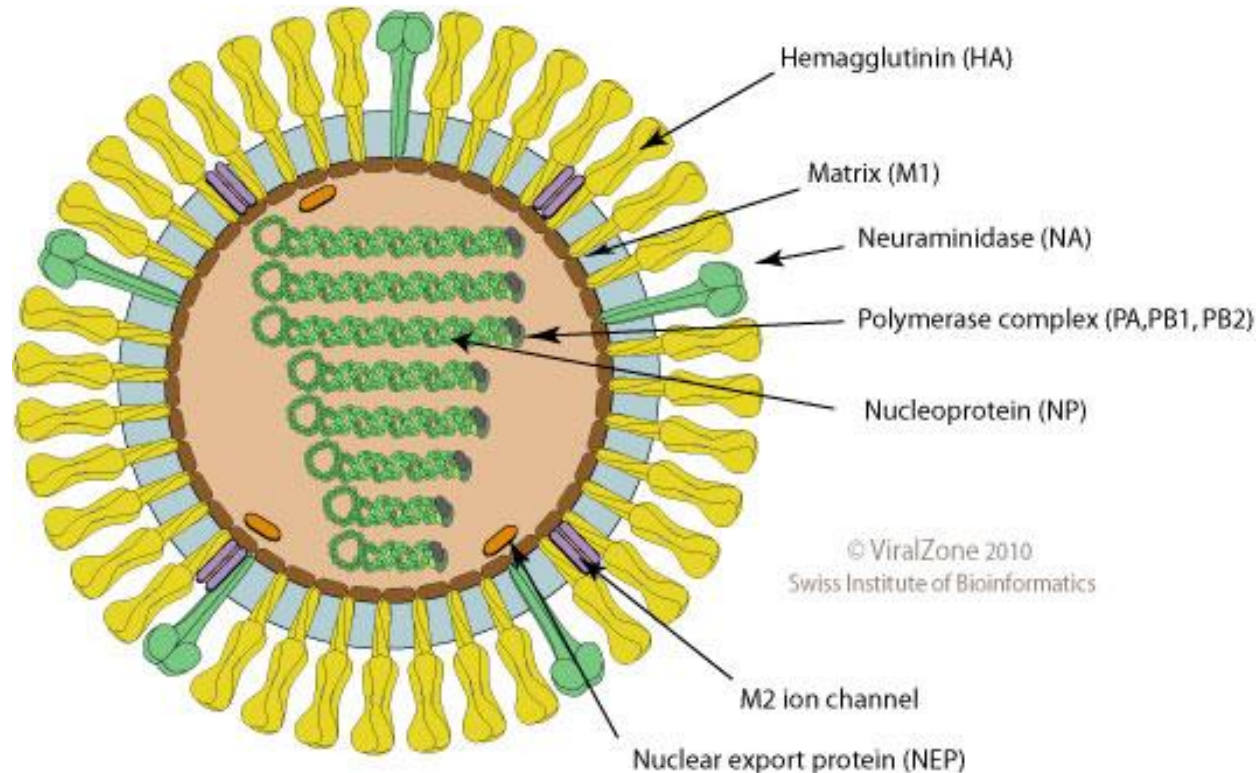
- Cavéoline
- Dynamine
- pH neutre
- Actine dépendant

L'avantage d'être endocyté



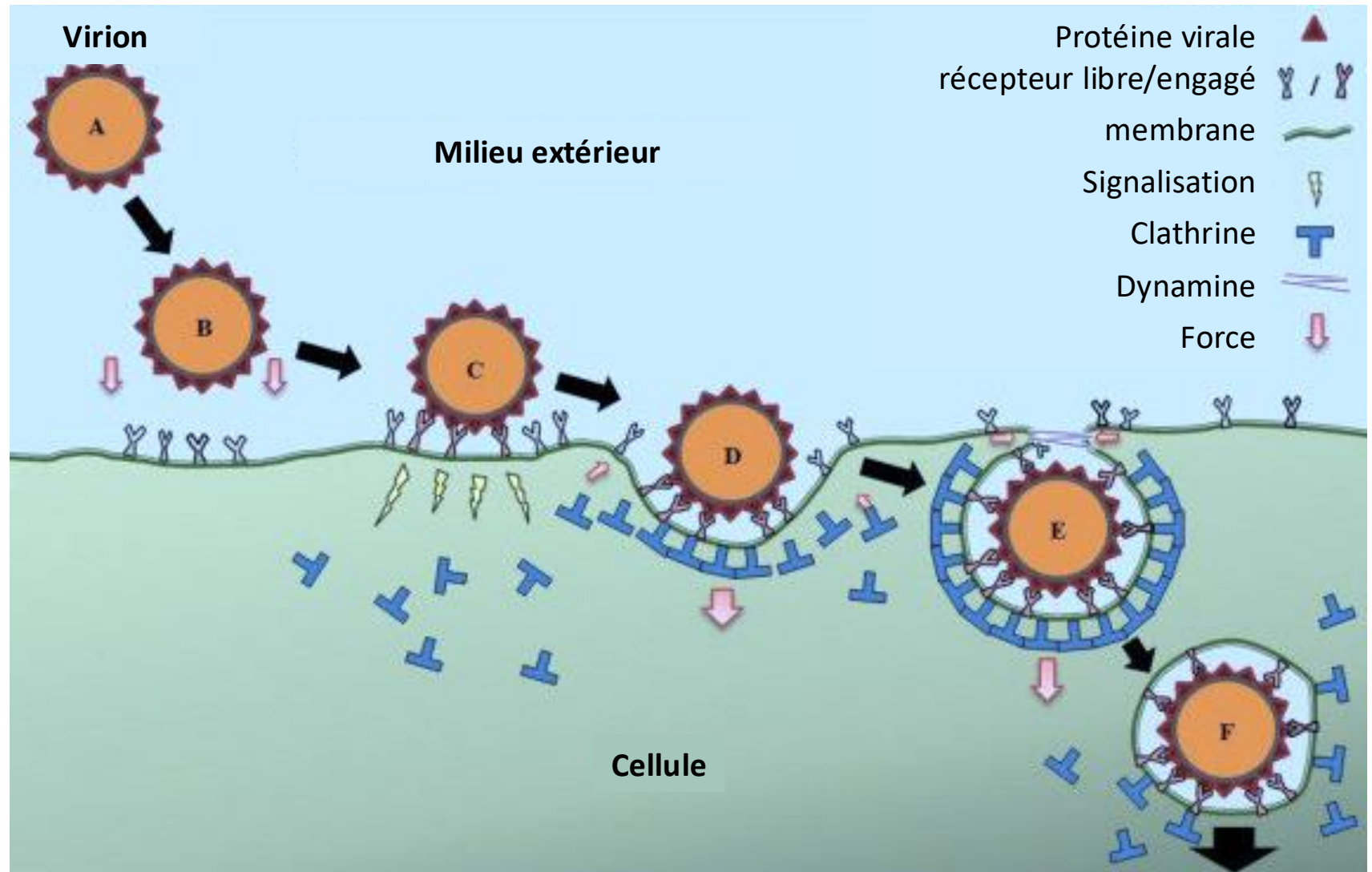
- Acidification
 - Modification des concentrations en ion (notamment Ca^{2+})
 - Modification de l'environnement redox
 - Présence de protéases activatrices (Furine / Cathepsine)
 - Retarde la détection du virus par le système immunitaire
- Modifications
des
composants
viraux

Virus Influenza *(virus de la grippe)*



- Virus enveloppé à ARN négatif segmenté
- Récepteur : acide sialique (liaison / HA)
- Cycle nucléaire

Entrée par endocytose médiée par la clathrine (ex : virus Influenza)



Le virus SV40

Simian Virus 40

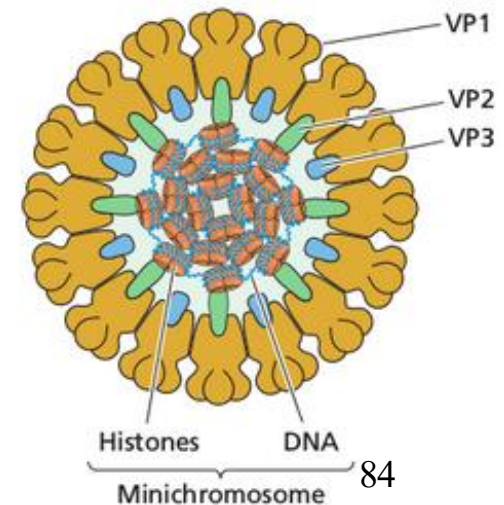
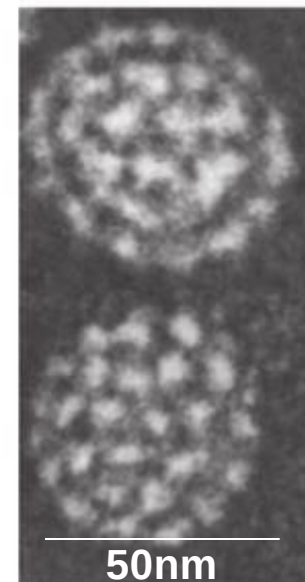
Isolé en 1950 : Virus présents dans des cellules de singes (utilisées pour réaliser un vaccin contre le poliovirus)

Passage singe → homme

→ Caractérisation des polyomavirus (famille des papovavirus)
SV40 → Virus modèle

→ virus induit des cancers dans les cellules de rongeurs

- Non enveloppé
- 3 protéines de capsides : VP1-3
- ADN circulaire db 5kb
- Récepteur : CMH-I, gangliosides

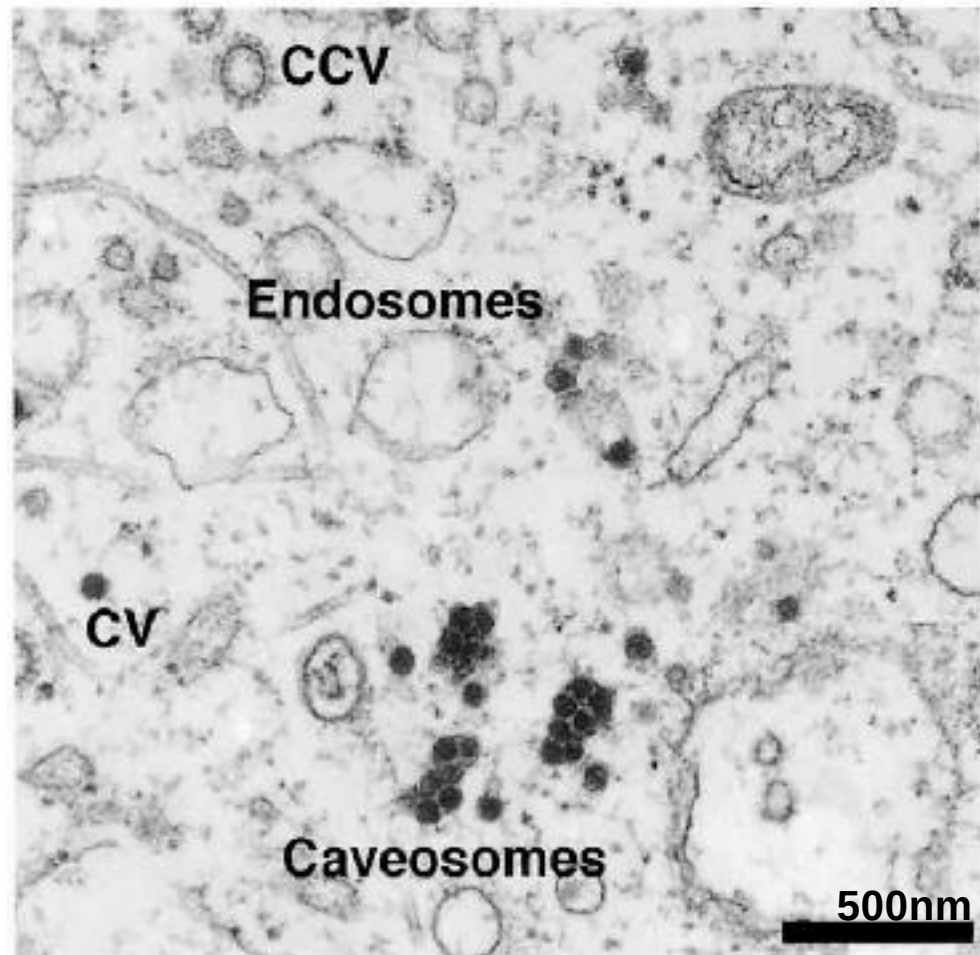


Entrée du SV40

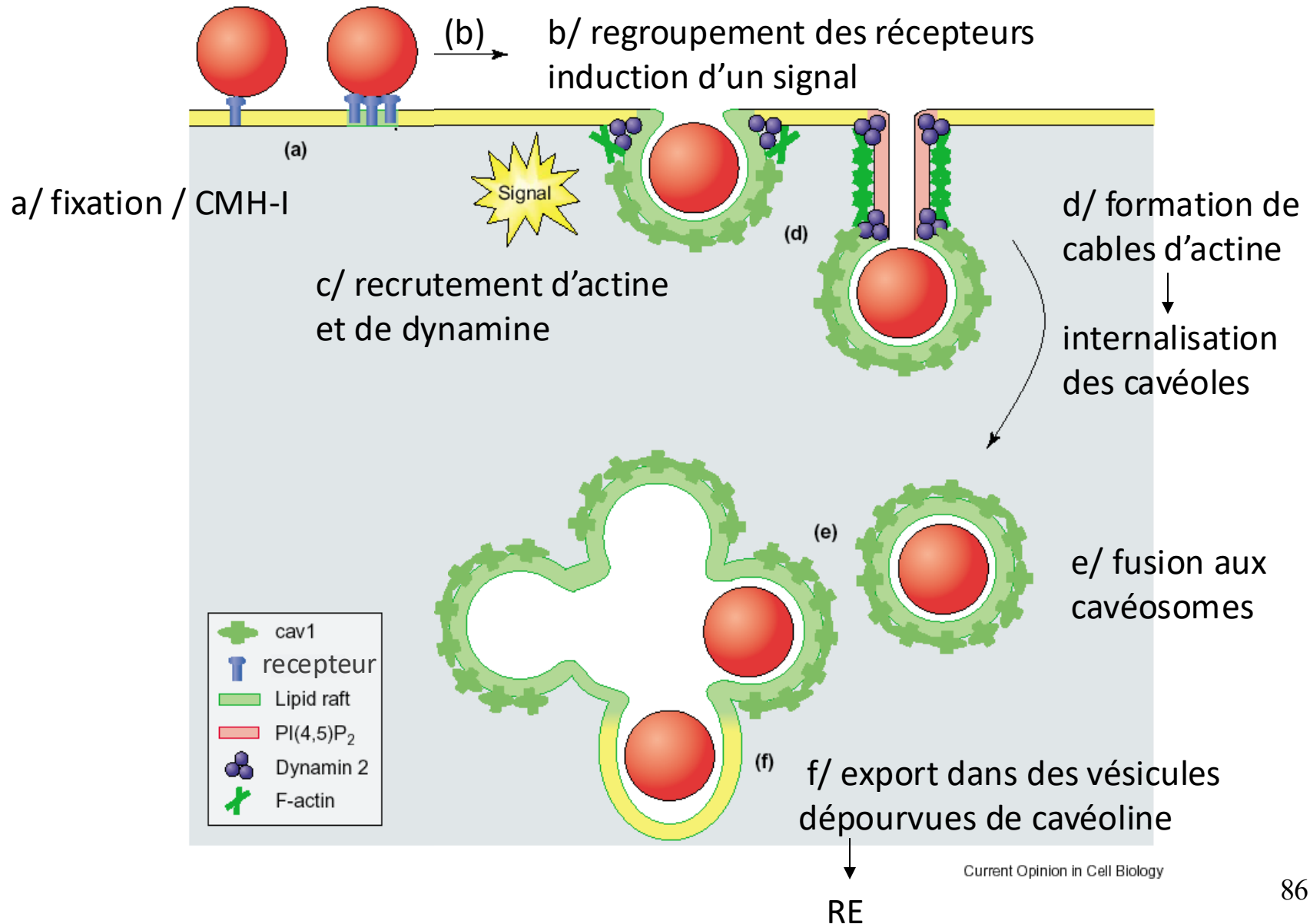
Cellules infectées par SV40 – 2hrs post-infection

CCV : Vésicule recouverte
de clathrine

CV: Vésicule de cavéole

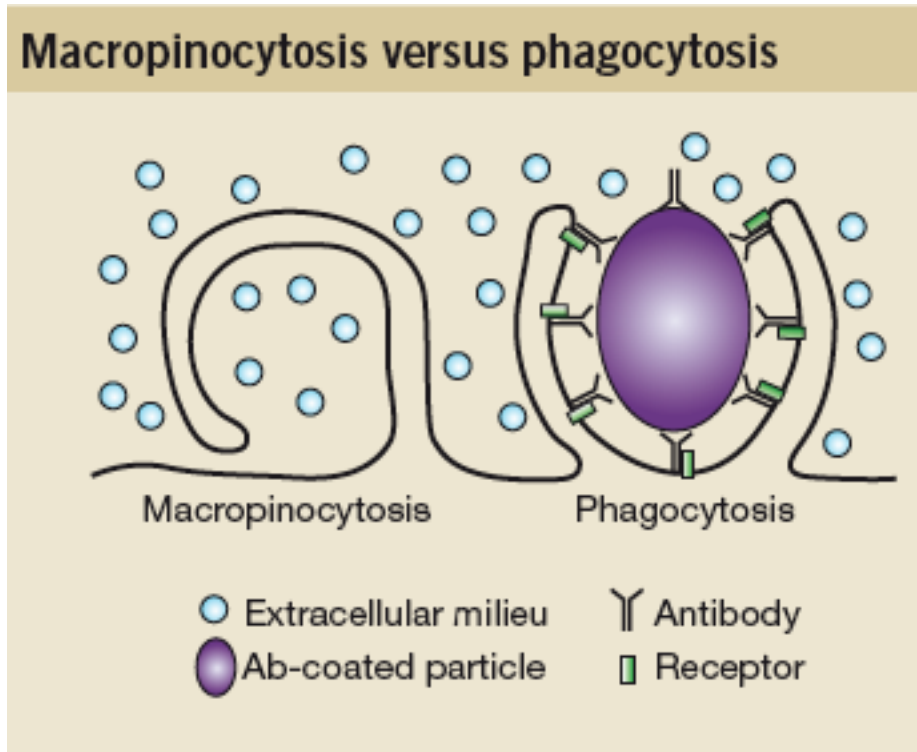


Entrée de SV40 par la voie cavéosome



La macropinocytose

- Absorption non spécifique de fluide, de solutés, de membrane, de ligands et de particules attachées à la membrane plasmique.
- Déclenchement transitoire et fonctionnement de durée limitée.

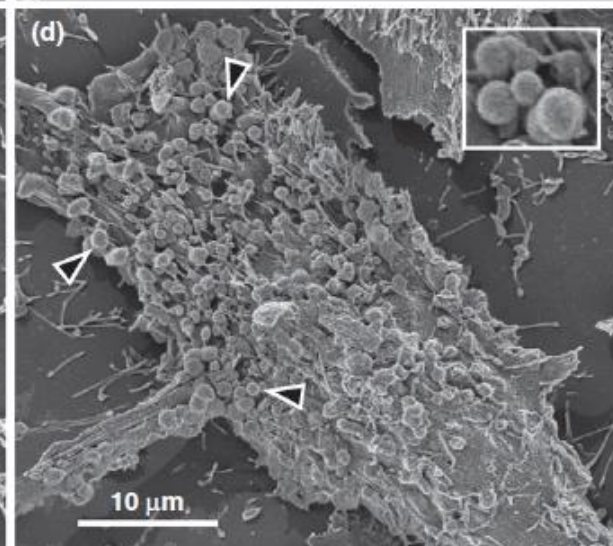
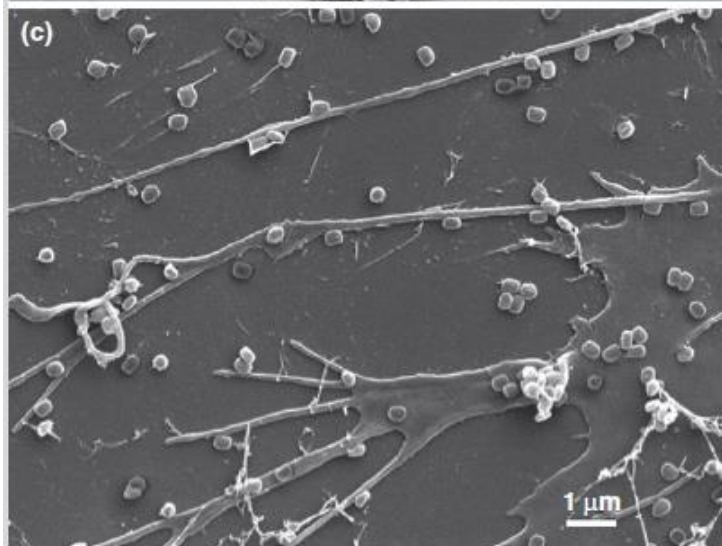
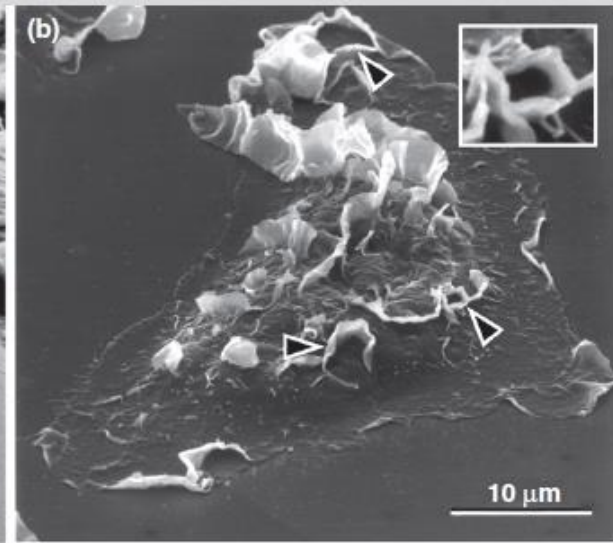
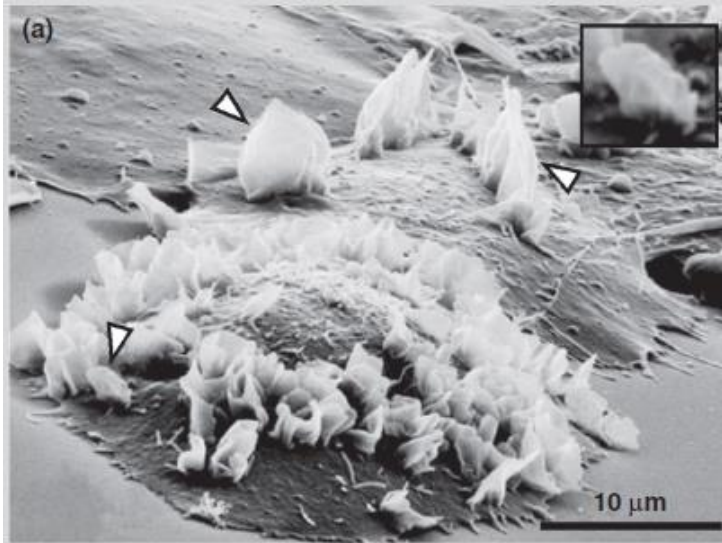


	Macropinocytose	Phagocytose
Ingestion particule :	Pas nécessairement	stricte
Ingestion de fluides :	Larges quantités	non
Spécificité :	non	oui
Type cellulaire :	Quasi tous	Cellules spécialisées
Machinerie cellulaire :	Non dédiée (R facteurs de croissance)	R / interaction surface particules ingérées
Modifications de l'actine :	globale	locale

Protrusions macropinocytiques

Lamellopodial ruffles (Ebola, Adv)

Circular ruffles (HIV, HRV, BTV)



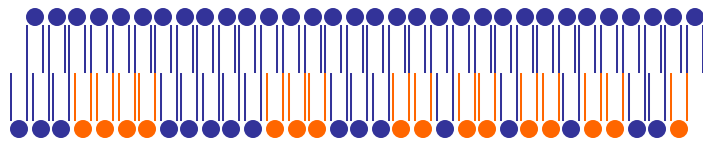
Filopodial protrusions (VV)

Blebs (VV, KHSV)

Mercer and Helenius, *Current Opinion in Microbiology*, 2012

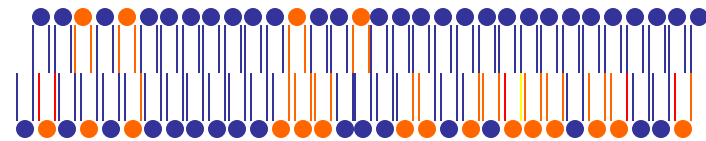
Mimétisme apoptotique

Milieu externe



PS

Cytoplasme



Cytoplasme

Intérieur du corps apoptotique

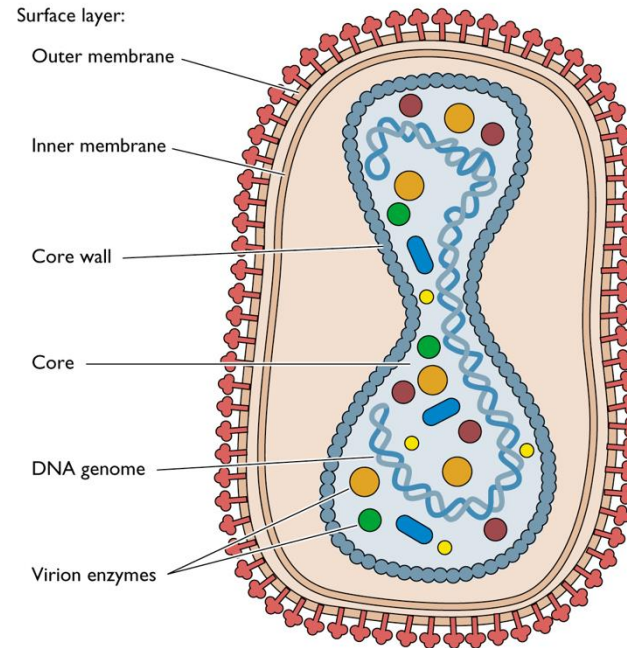
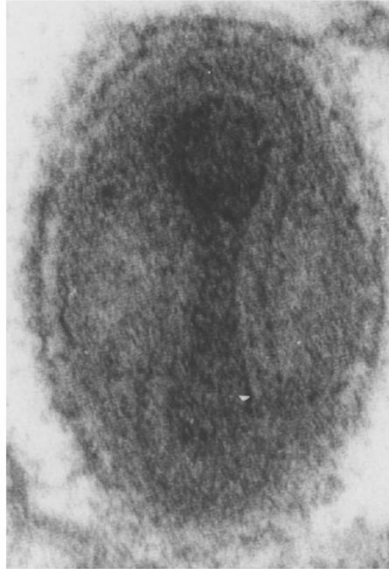
Cellule normale

Cellule ou corps apoptotique

- Certains virus ont de la phosphatidylsérine à leur surface pour mimer les débris apoptotiques.
- Ces virus tirent parti du système d'élimination des corps apoptotiques de la cellule hôte pour l'internalisation.

Virus de la vaccine

A



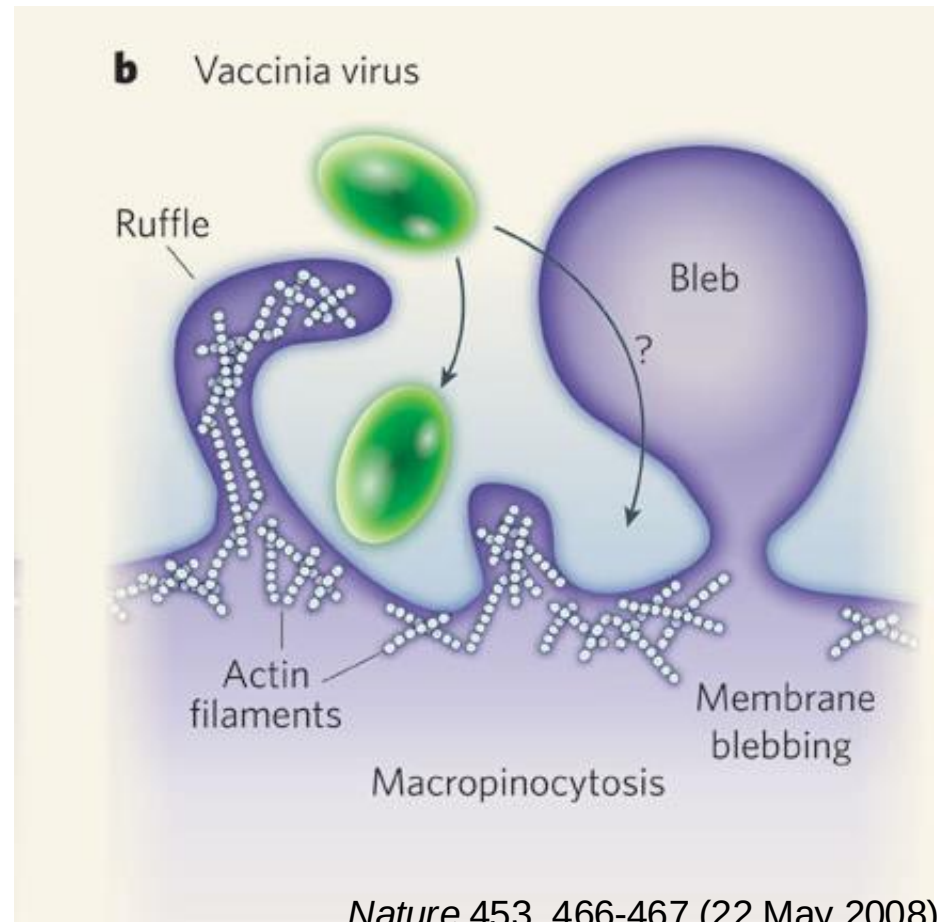
- Génome ADN db linéaire
→ vaccin contre la variole

L'art du déguisement...

Membrane virale riche
en **phosphatidylserine**



Phopholipide qui permet
la capture des **débris
apoptotiques** par
macropinocytose



Nature 453, 466-467 (22 May 2008)

- Activation de voies de signalisations intracellulaires (kinases)
- Dynamine indépendant

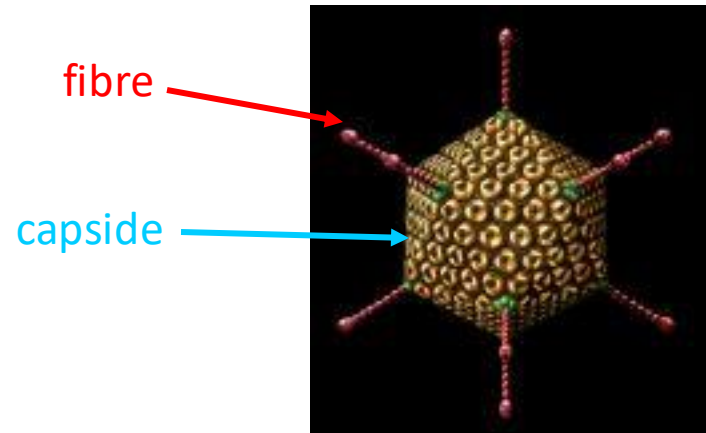
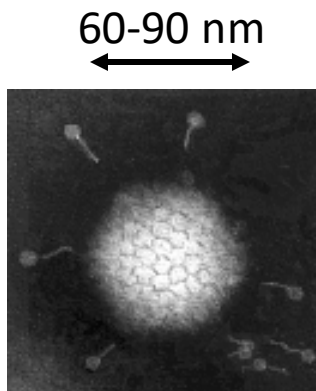
Les virus non
enveloppés
perforent/lysent la
vésicule d'endocytose

Les adénovirus

- Découvert en 1953
- Association adénovirus & tumeur chez le hamster nouveau-né.

➡ Un virus « modèle »

- Infectent des mammifères et les oiseaux
- chez l'homme : infection des voies respiratoires
- Peuvent provoquer une infection latente dans les tissus lymphoïdes



Génome :
ADN double brin 36kb

Entrée de l'Adénovirus - Endocytose

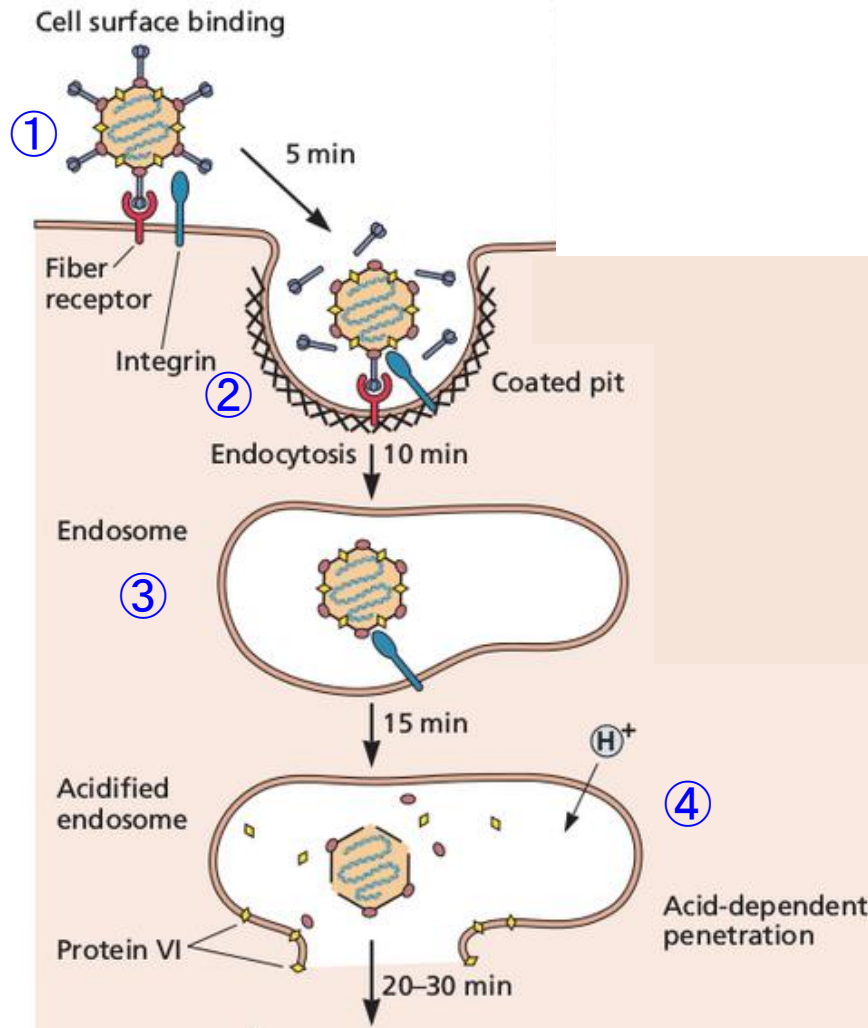
1/ Attachement

le trimère de fibre se lie
à 3 molécules
réceptrices :
CAR (cadhérine)

2/ Elimination de la fibre :

La base du penton
Interagit avec des
intégrines

3/ endocytose

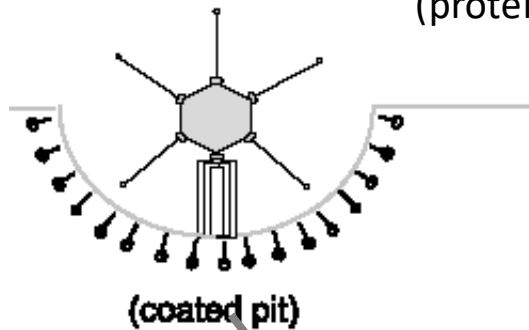


4/ pH acide :
Déstabilisation de la capside et relargage de la protéine VI. Le domaine Nter hydrophobe de VI induit la **rupture de l'endosome**.

Endocytose de l'Adénovirus

Regroupement d'intégrine → activation d'un signal
(protéines PI3 kinase, Rac, cdc 42)

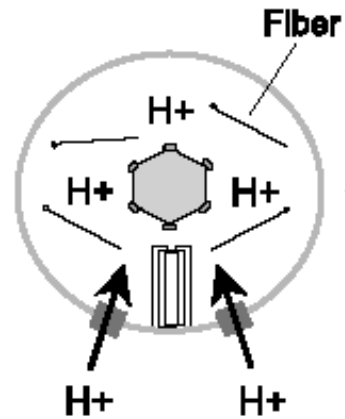
- Réarrangement du cytosquelette, polymérisation de l'actine
- Formation de lamellipode, extension de la mb : mb ruffling



D

1

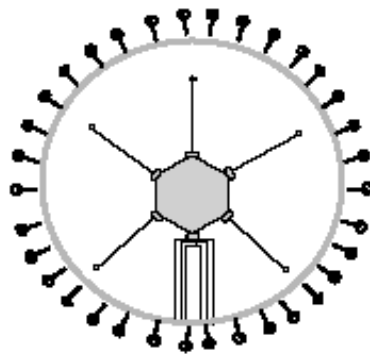
1: Endocytose clathrine dépendante, médiée par la dynamine (GTPase)



F

pompes à protons
(acidification)

2

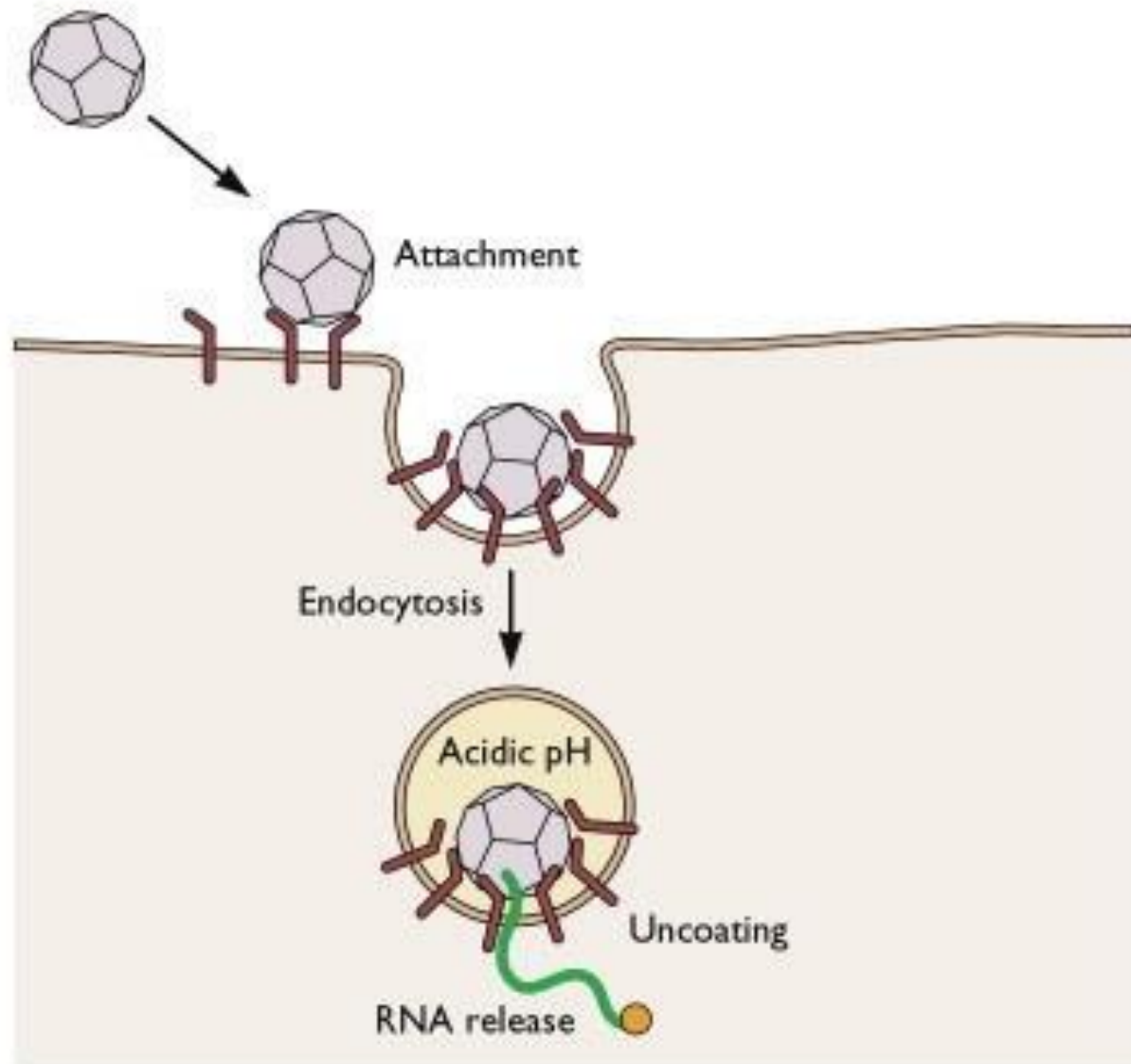
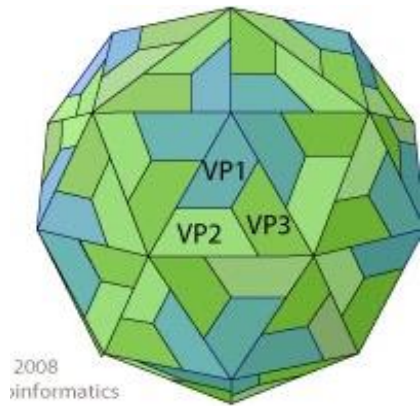
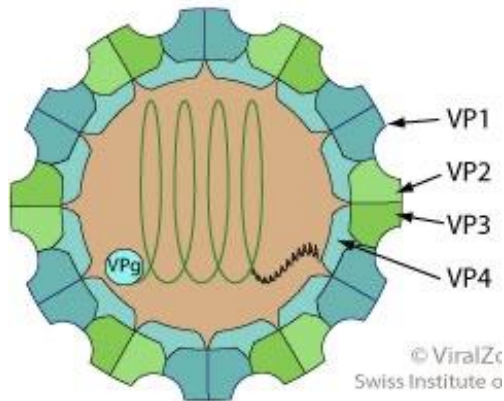


(coated vesicle)

E

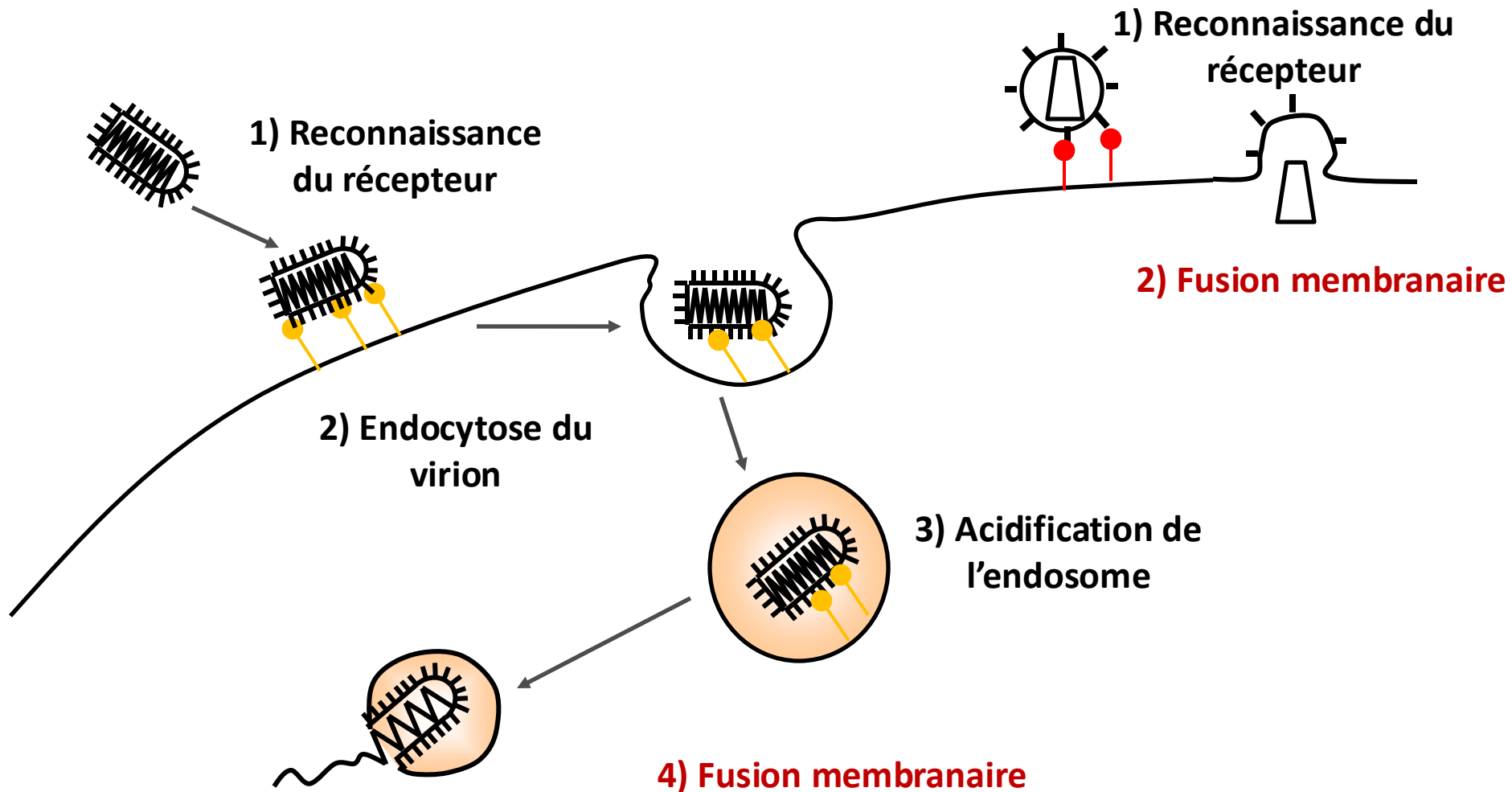
2: Fusion aux endosomes précoces (F)
pH 6 : penton change de conformation, expose des régions hydrophobes

Entrée du virus de la poliomyélite

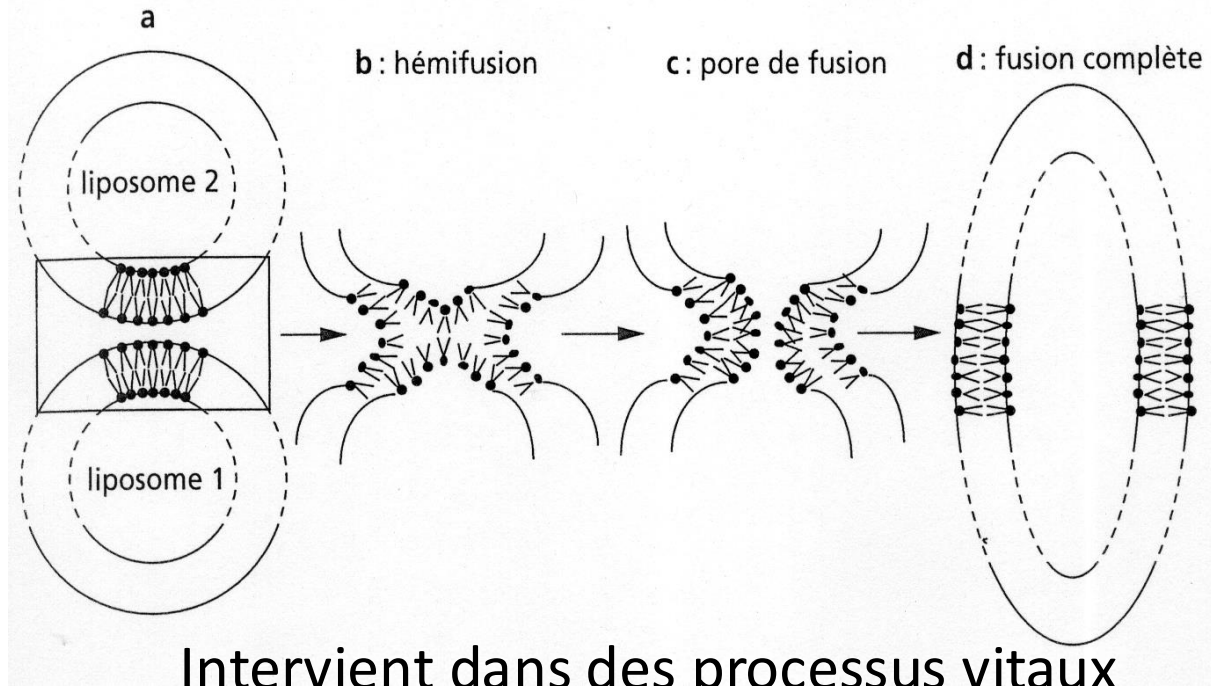


Les virus enveloppés
libèrent leur
génomme par fusion
membranaire

Les virus enveloppés libèrent leur génome par fusion membranaire

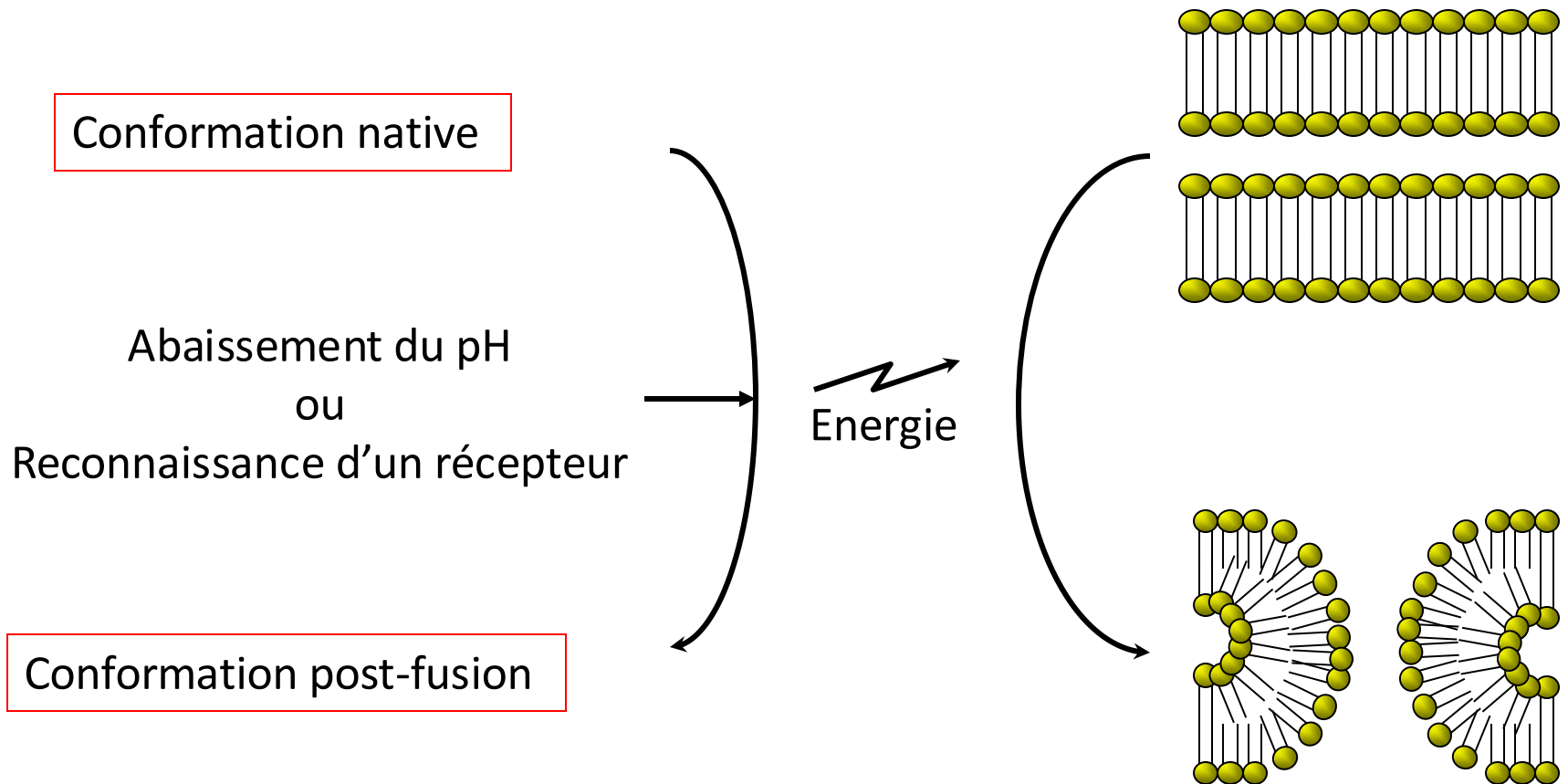


Mécanisme général de déformation des membranes lors de la fusion membranaire

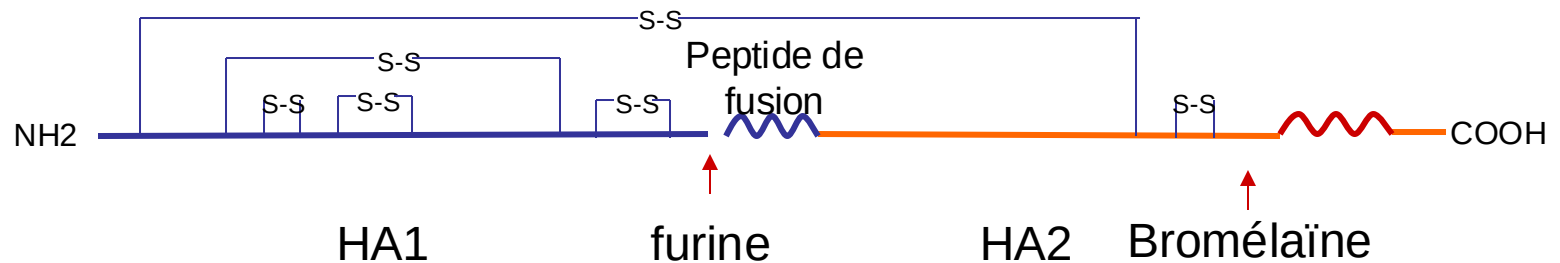
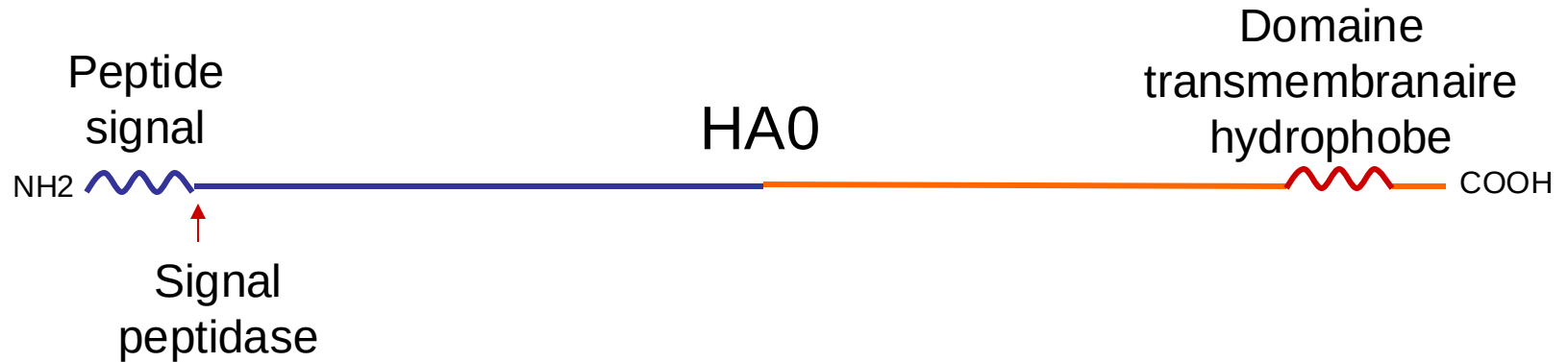


- ➡ Fusion non spécifique (ex: entre 2 liposomes), pas très efficace
- ➡ Fusion spécifique, beaucoup plus efficace

Les protéines de fusion apportent l'énergie nécessaire au déroulement de la fusion



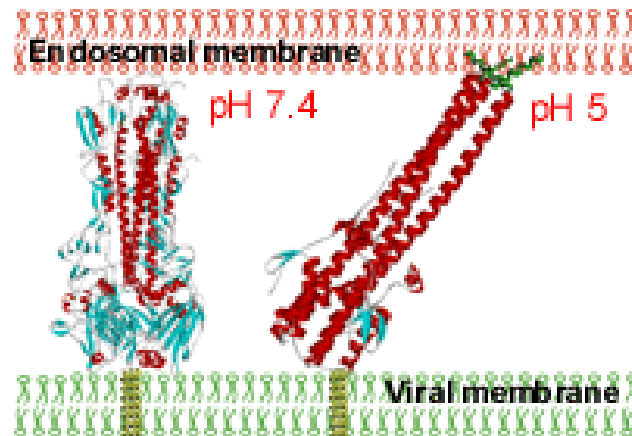
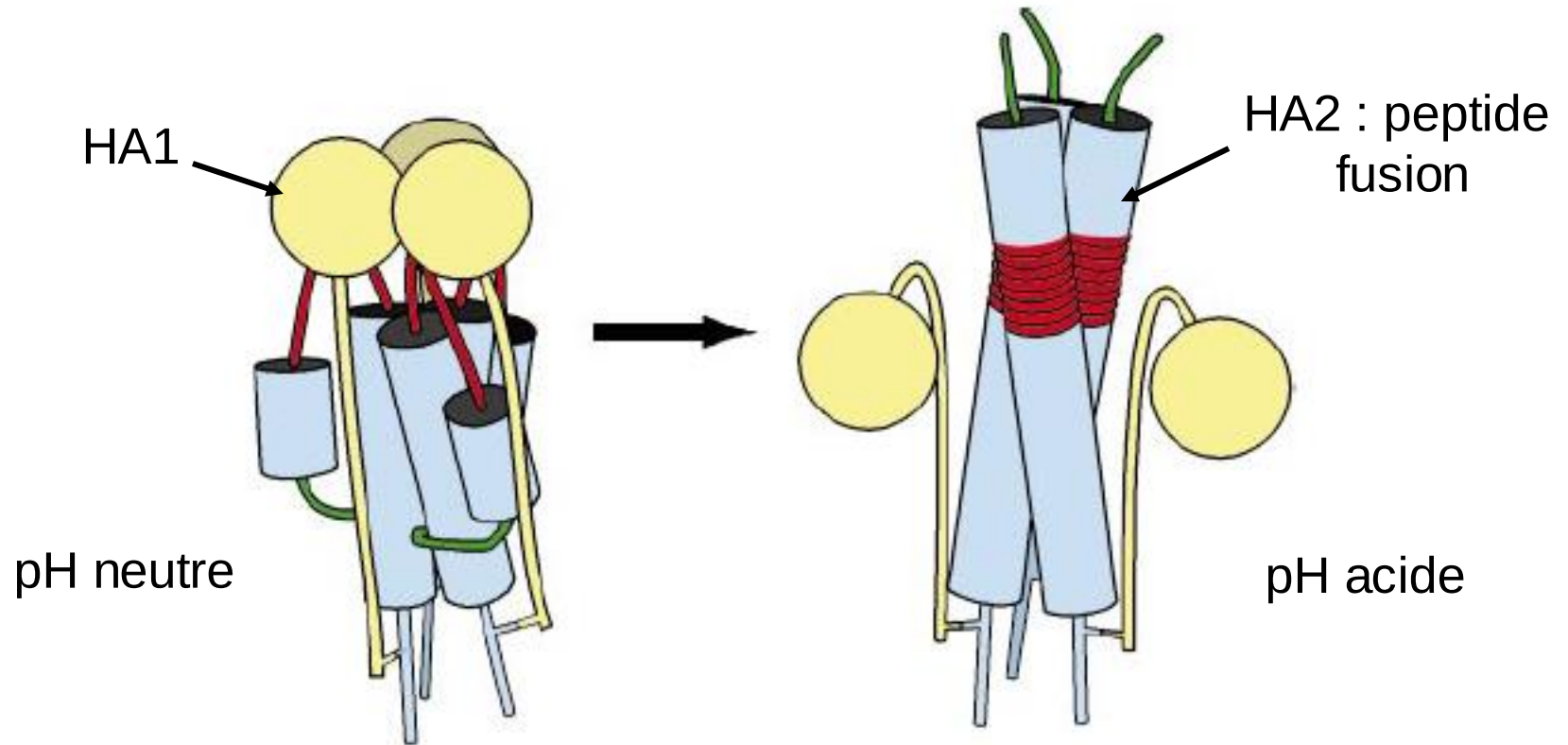
HA du virus de la grippe : la glycoprotéine modèle



*interaction avec
l'acide sialique*

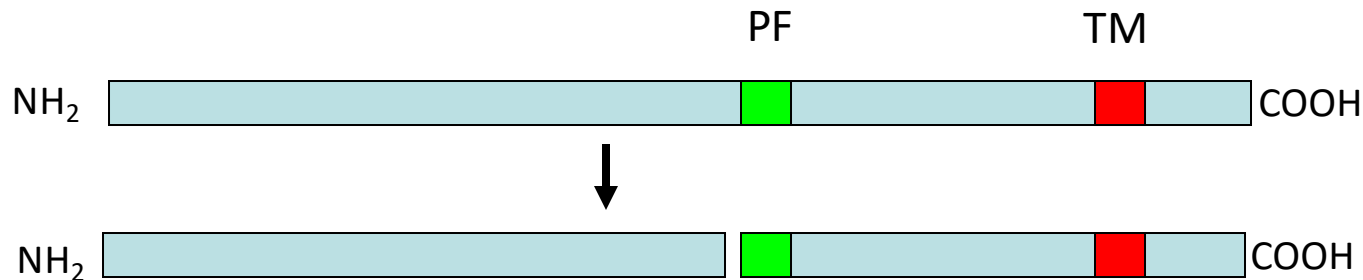
Fusion membranaire

Hémagglutinine HA



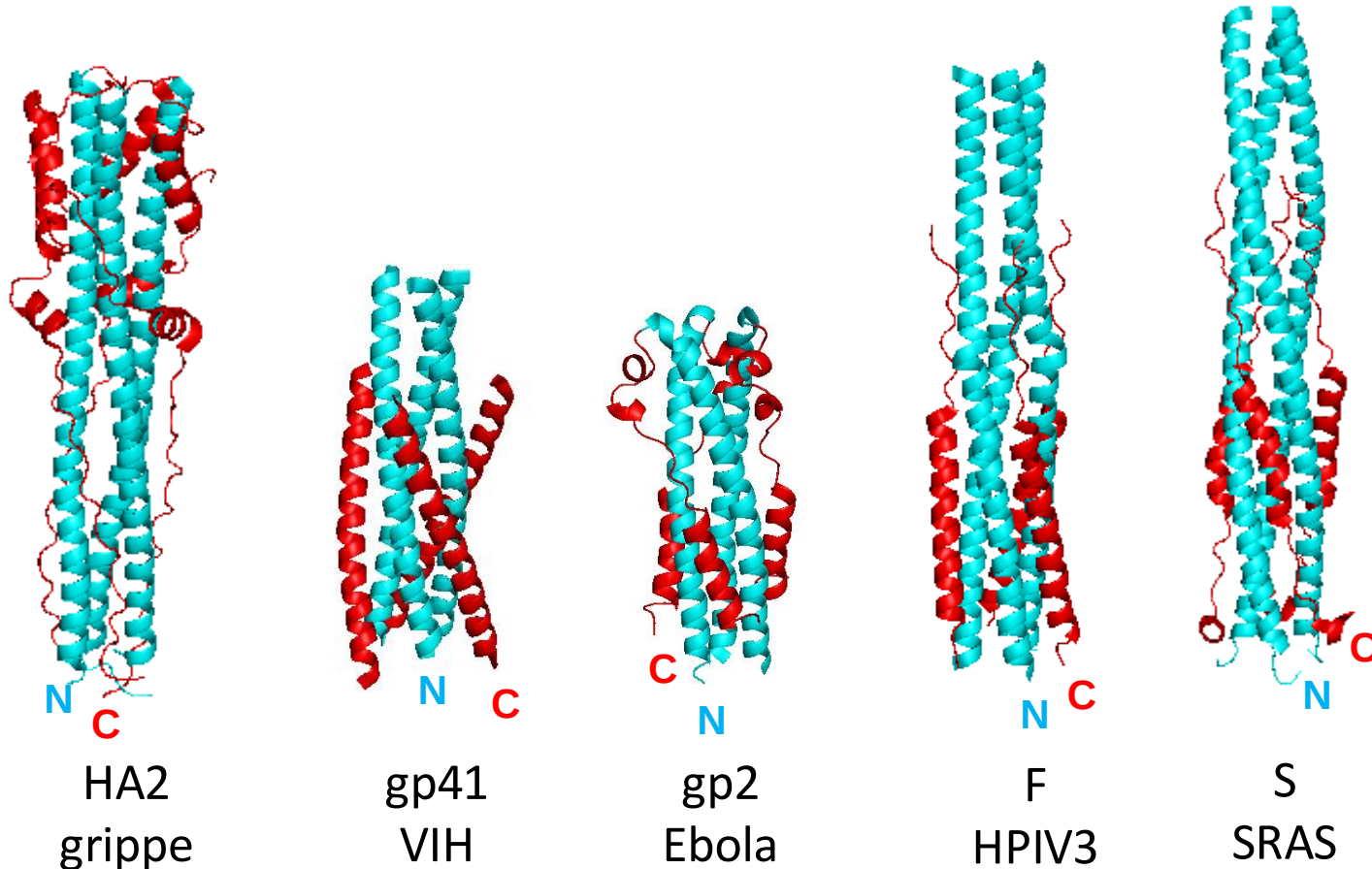
Glycoprotéines fusogènes de classe I

Clivage activateur direct générant un peptide de fusion amino-terminal
(cas de HA, de gp160 du VIH, clivée en gp120 et gp41).



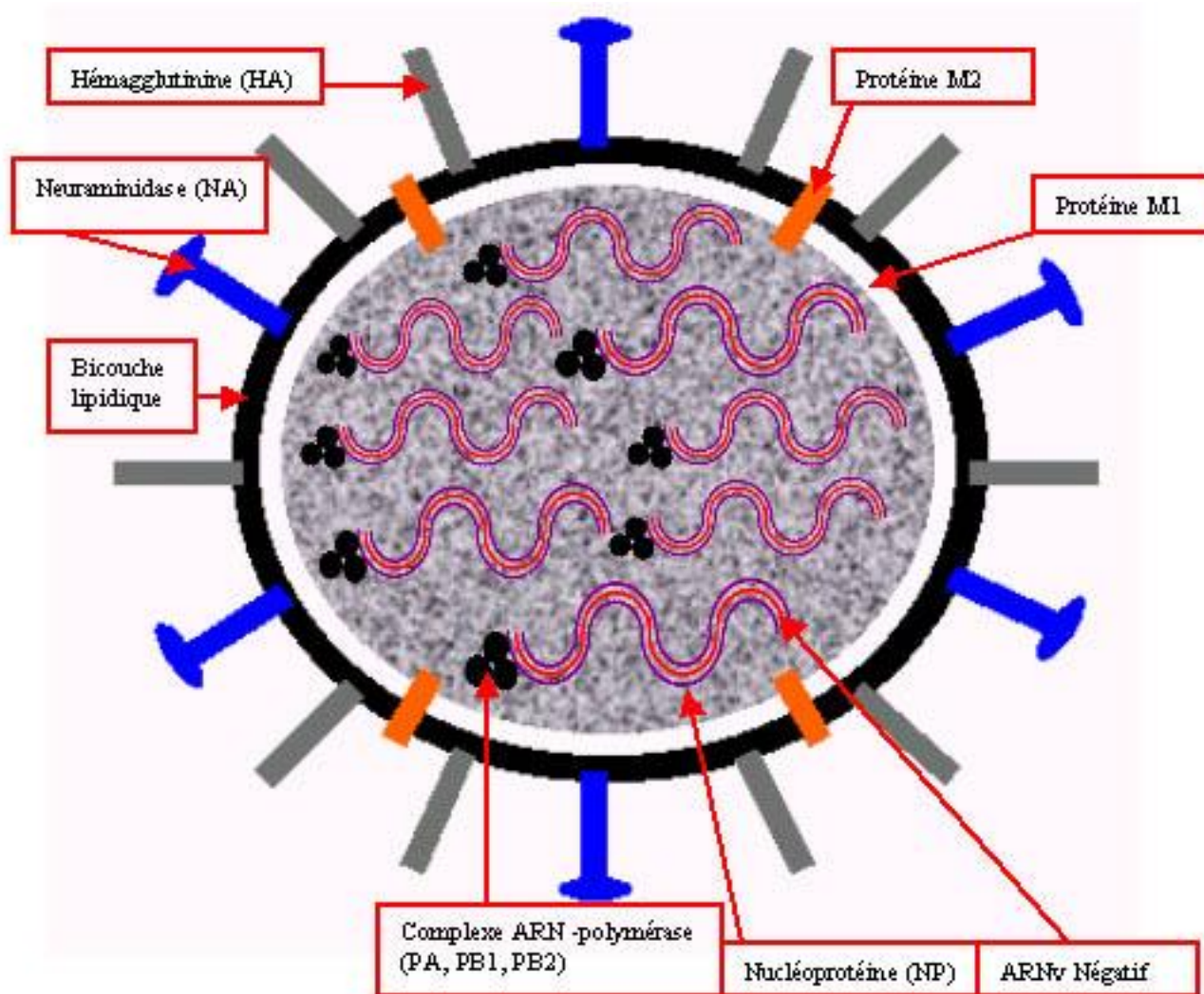
La protéase impliquée est une protéase de l'hôte du type trypsine (protéase extracellulaire) ou furine (protéase du Golgi). Certaines protéases bactériennes peuvent aussi jouer ce rôle.¹⁰³

Structure des protéines de fusion virales de classe I



- Perpendiculaire à la membrane - spikes
- Structures principales en α -hélices
- forment des trimères

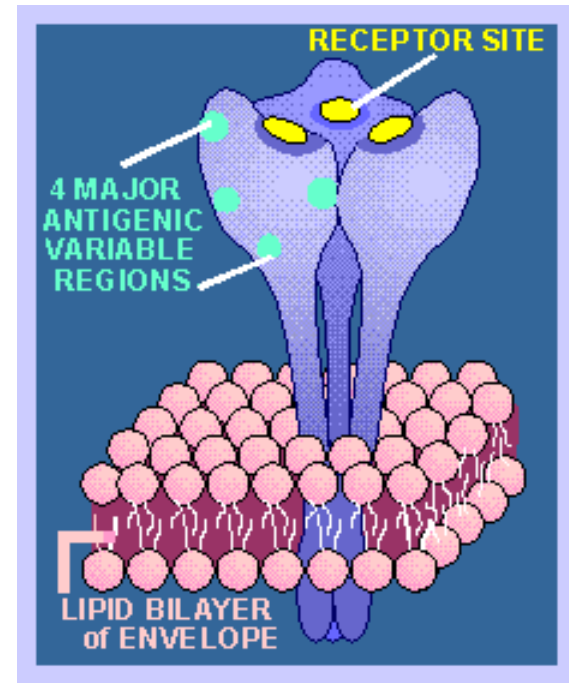
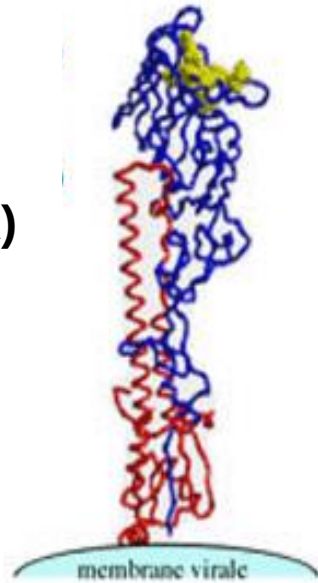
Le virus de la grippe (influenza virus)



- Virus à ARN négatif segmenté
- Virus enveloppé
- Cycle nucléaire

Virus de l'influenza : attachement

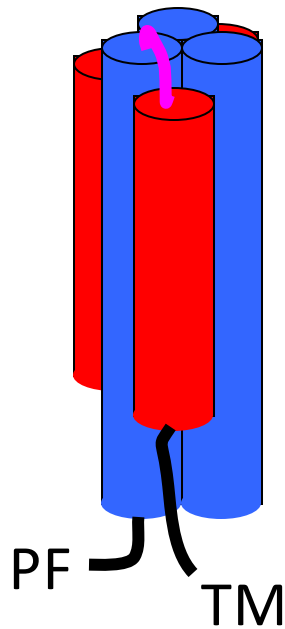
Hémagglutinine (HA)



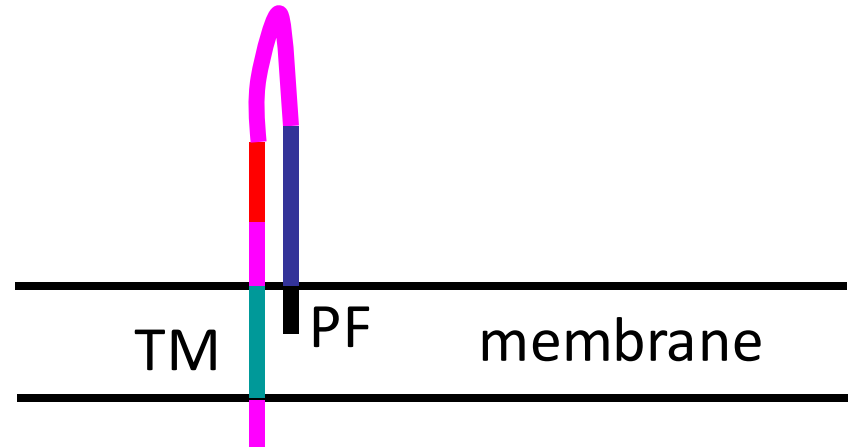
HA trimère

Neuraminidase (NA) + Hémagglutinine (HA) se lient aux acides sialiques
(Acide N-acetylneuraminic)

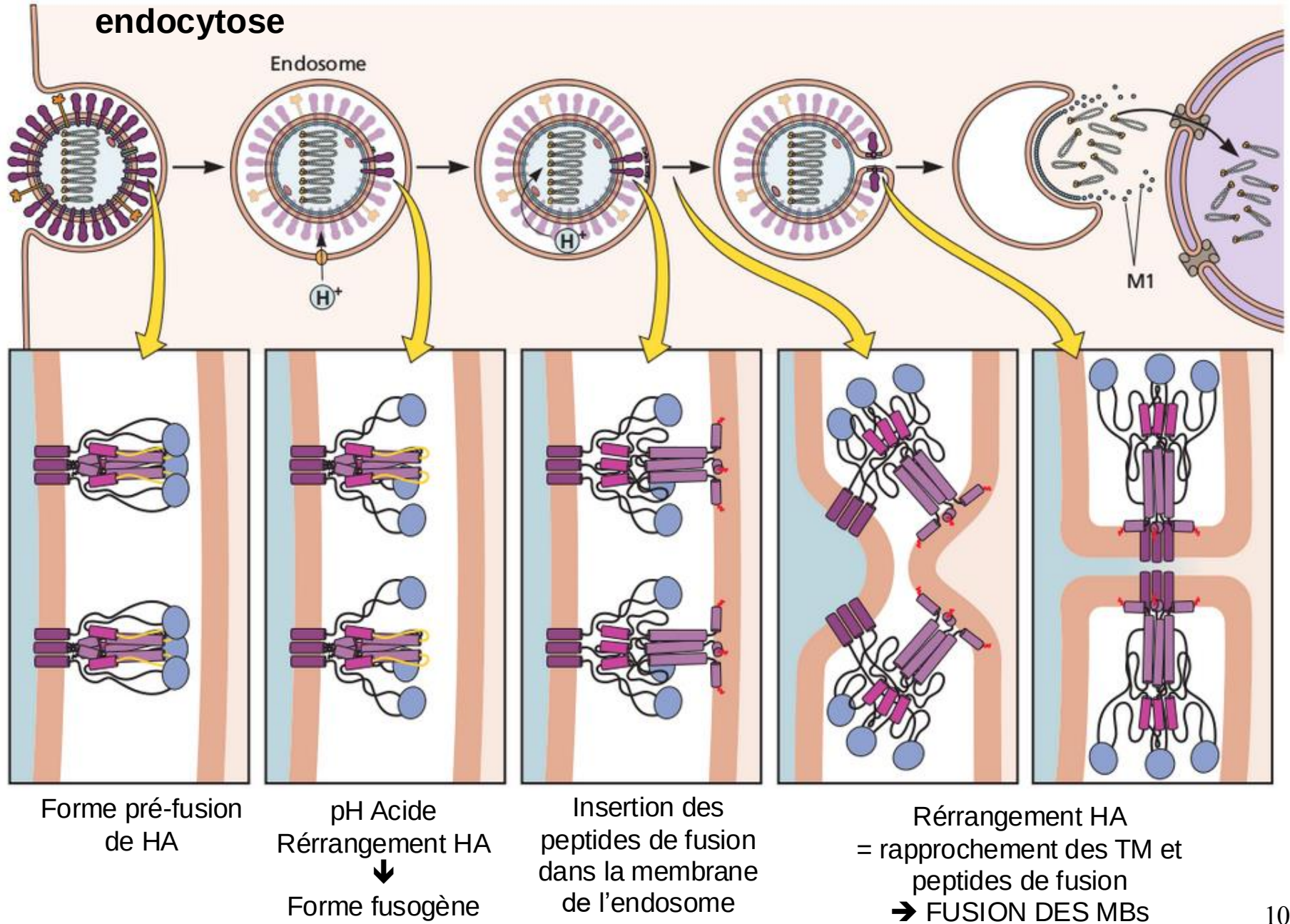
Topologie des glycoprotéines virales fusogènes de classe I dans leur conformation post-fusion



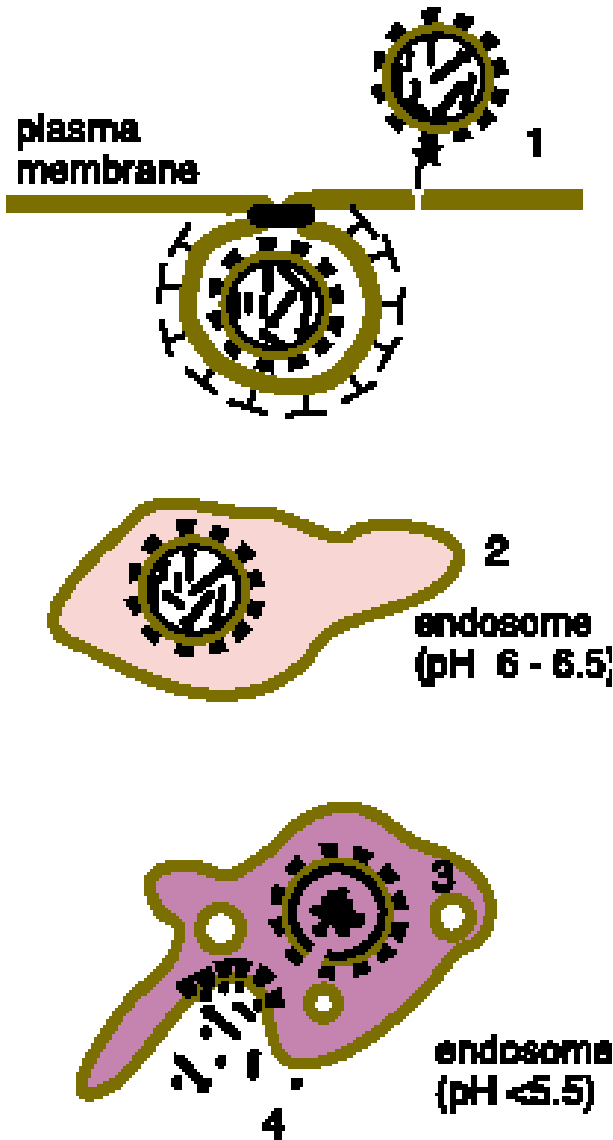
Topologie finale en **épingle à cheveu** :



Influenza : fusion à la membrane de l'endosome



Influenza et endocytose



- Formation de puits recouverts de clathrine

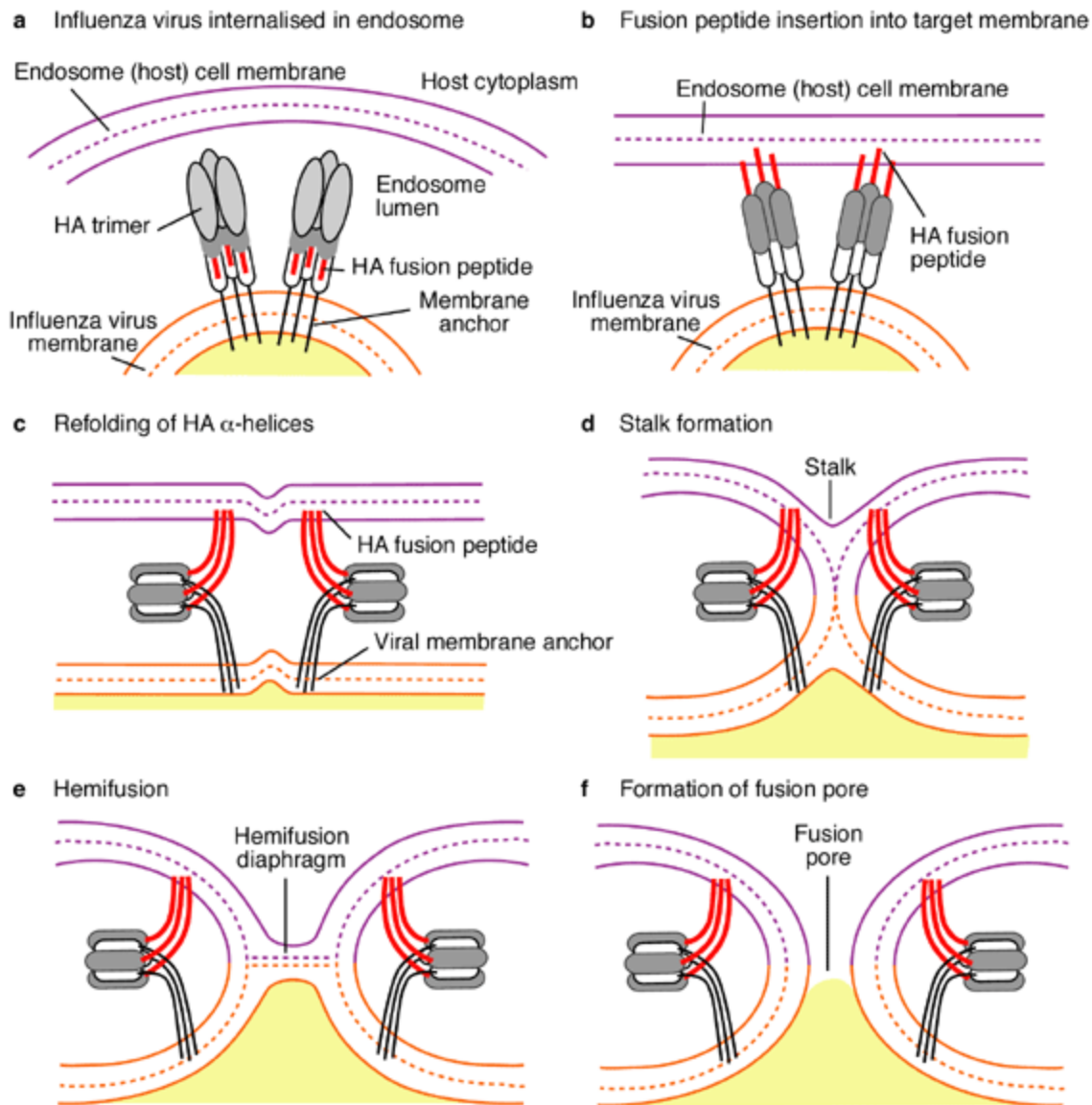
(Pas d'activation de PI3 kinase ...)
Dynamine intervient

- Fusion endosome précoce puis endosome tardif

- pH < 5 : changement de conformation de HA, fusion, libération des nucléocapsides

Remarque:

- Influenza : Endosome tardif
- virus de la forêt de semliki : Endosome précoce

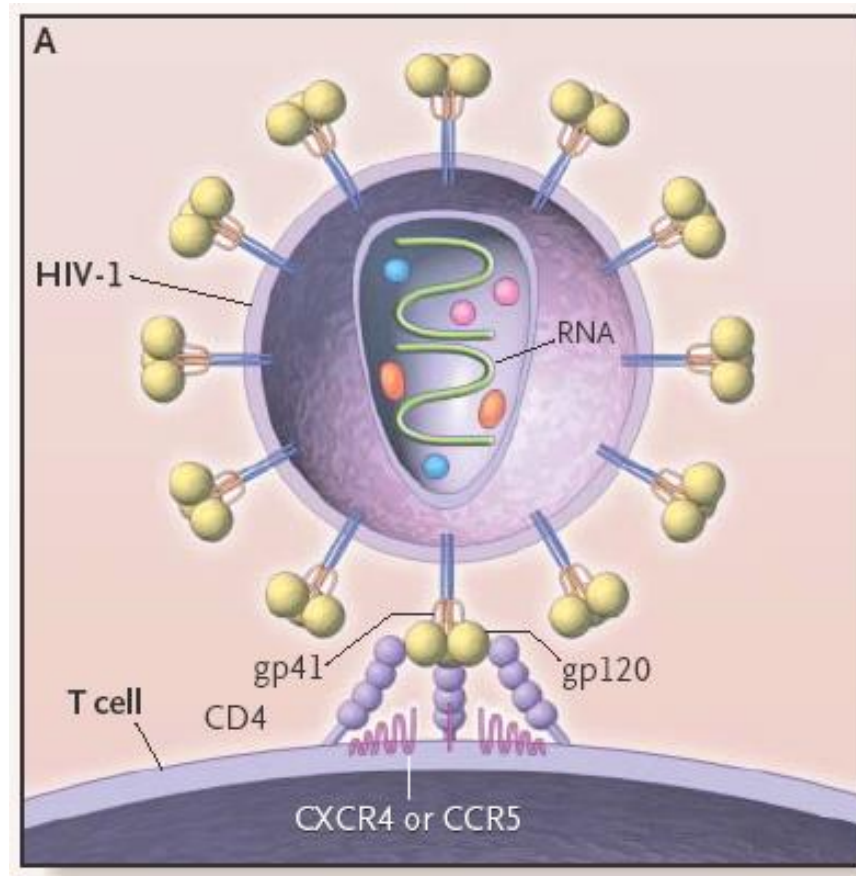


Stalk-pore hypothesis for membrane fusion mediated by influenza haemagglutinin (HA)

Pore :
Passage de la
nucléocapside

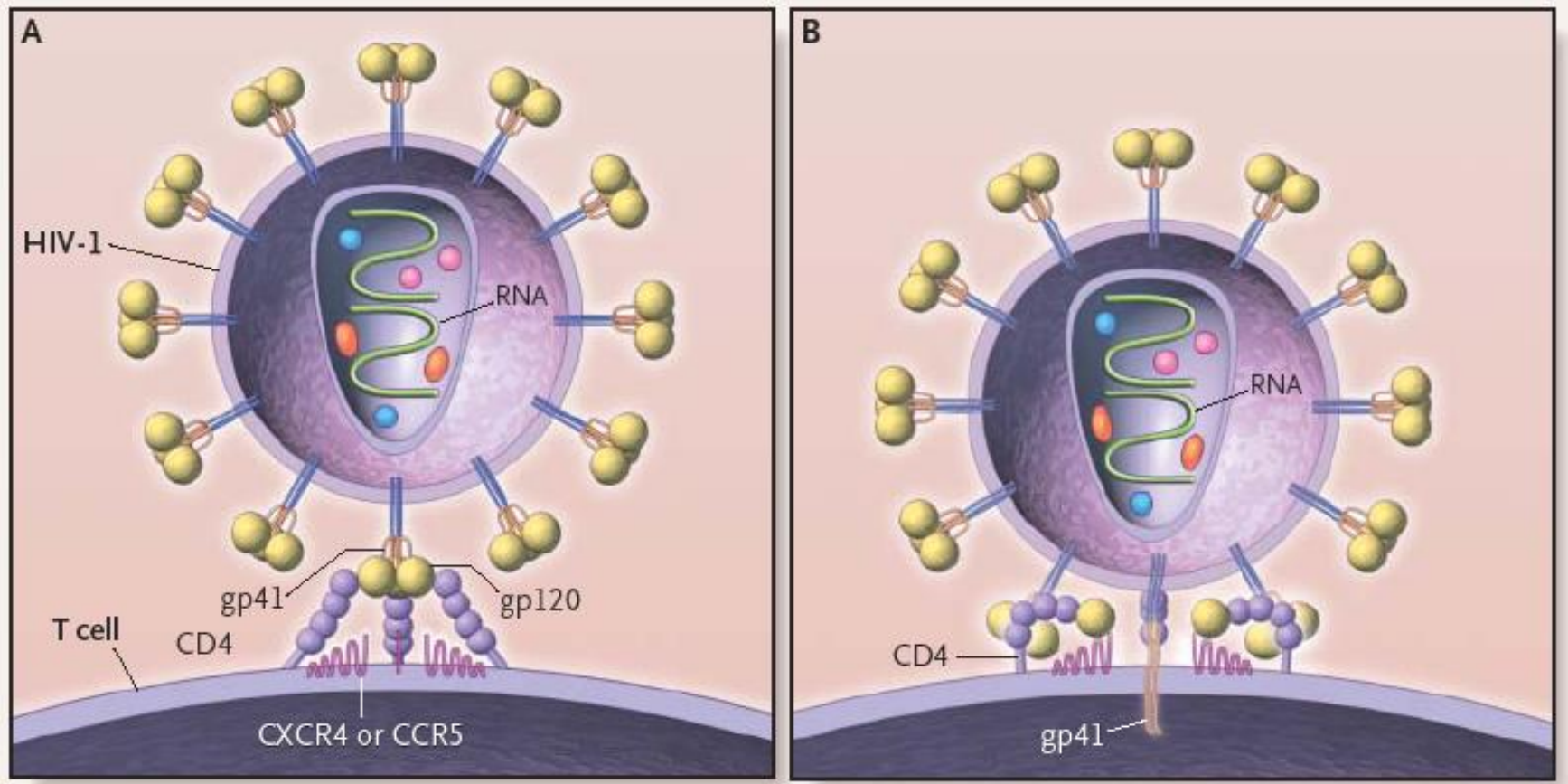
Le virus de l'immunodéficience humaine (VIH)

- Enveloppé
- ARN (+)

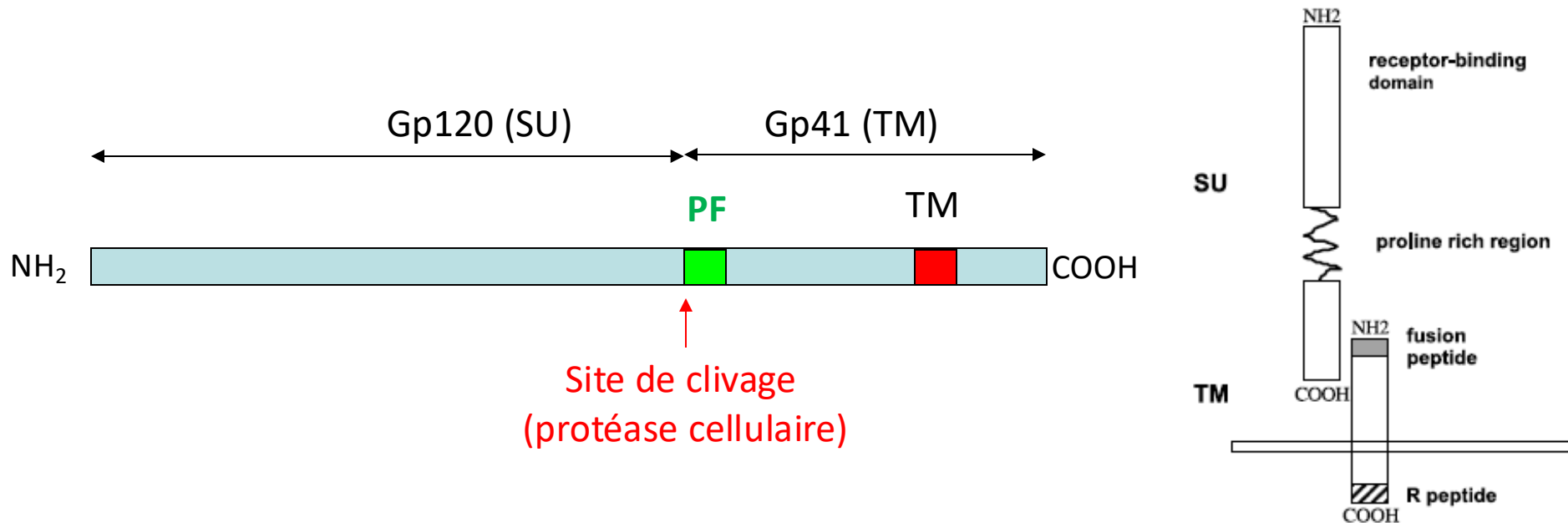


Récepteur : CD4 (lymphocytes T, macrophages, cellules dendritiques)
Co-récepteur : CCR5 ou CXCR4 (récepteurs de chimiokines)

VIH : Entrée gp120/gp41



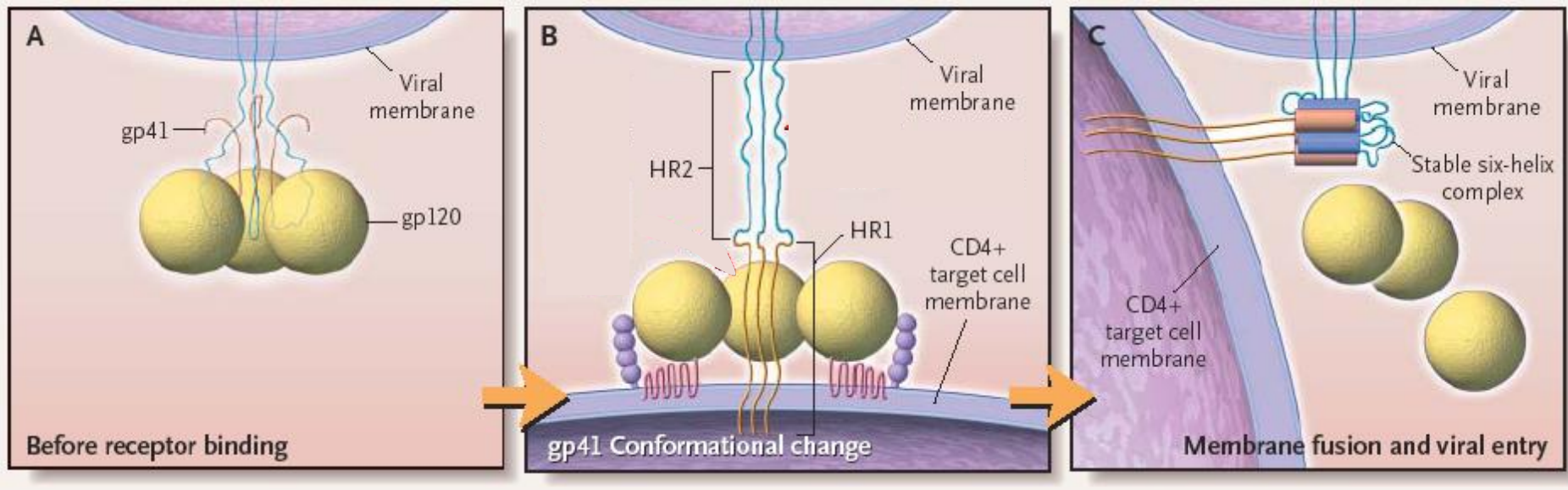
Les protéines d'enveloppe du virus de l'immunodéficience humaine (VIH)



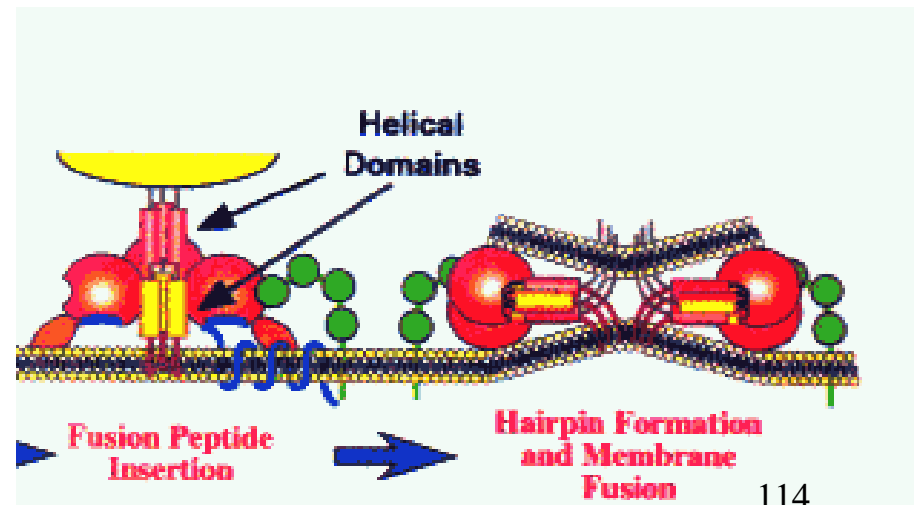
Récepteur : CD4 (lymphocytes T, macrophages, cellules dendritiques)

Co-récepteur : CCR5 ou CXCR4 (récepteurs de chimiokines)

Entrée du VIH

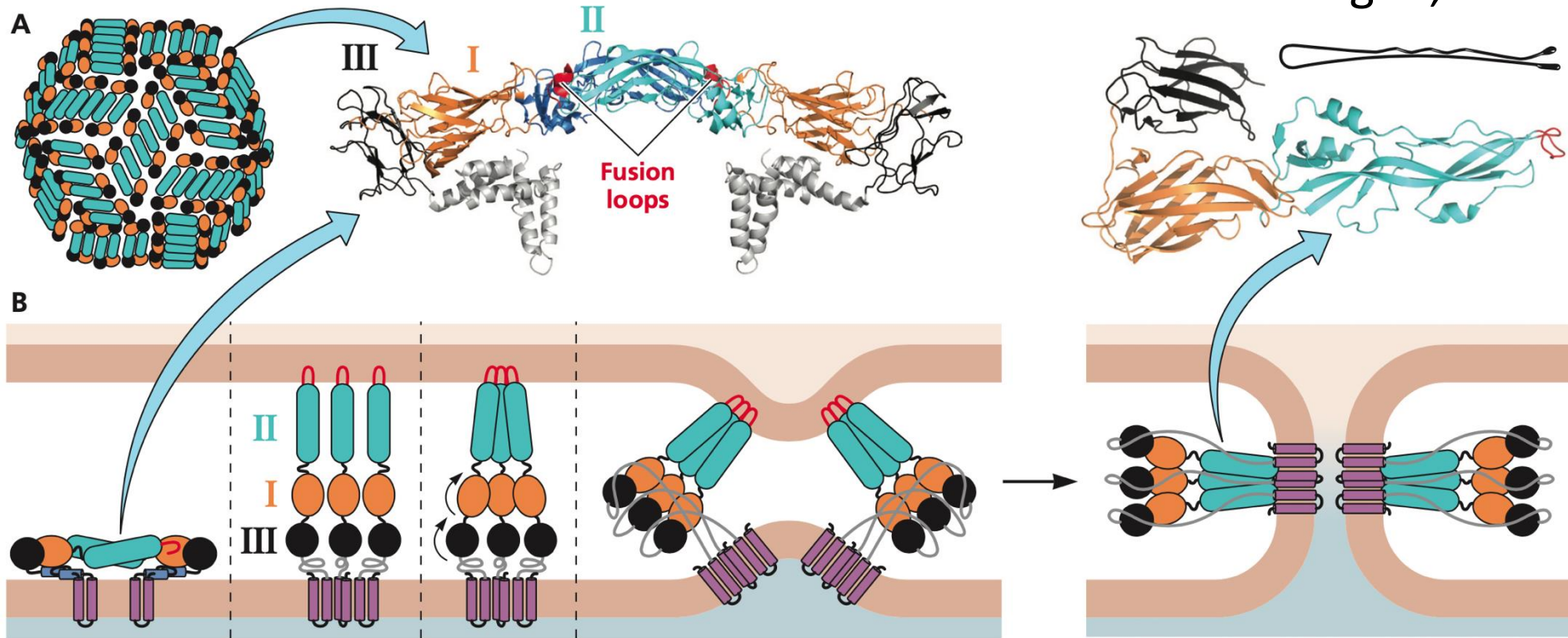


- Mécanisme de fusion membranaire similaire à l'influenza
- Mécanisme complexe, impliquant des changements de conformation (conséquence de l'interaction avec le co-récepteur)
- Cible pour des inhibiteurs



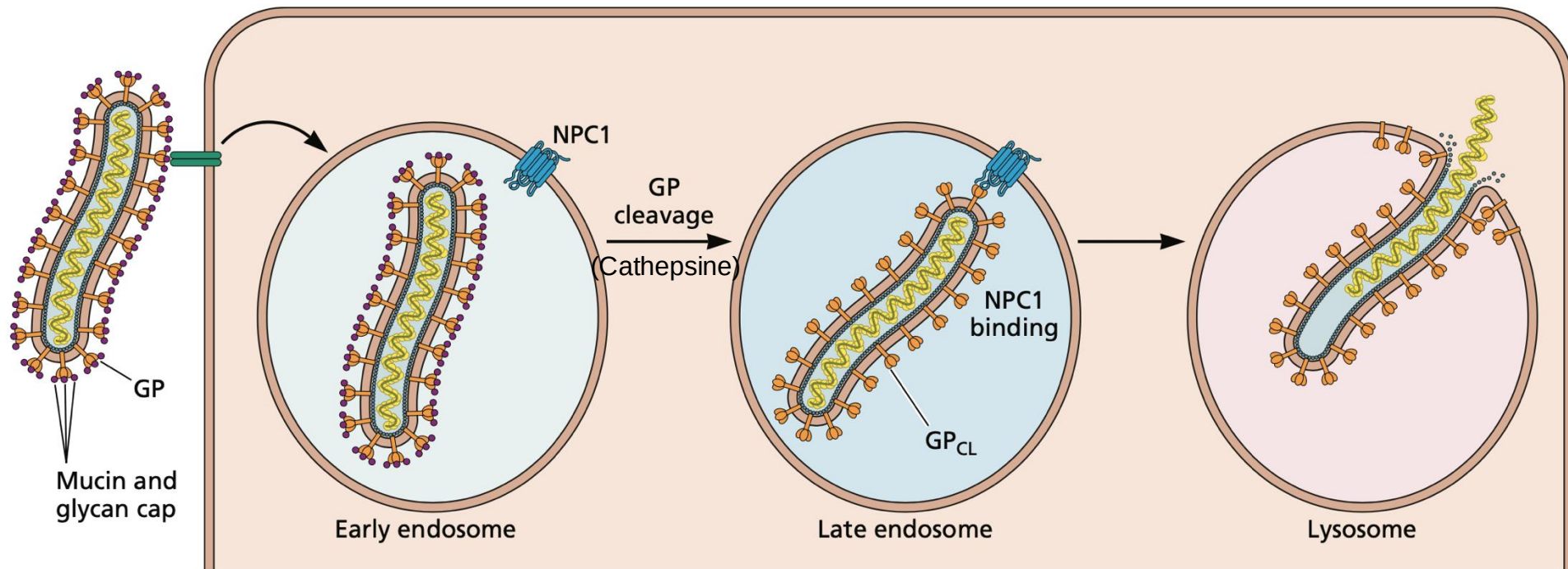
Structure des protéines de fusion virales de classe II

Ex : virus de la Dengue, ZIKA



- Parallèles à la membrane
- Structures principales en feuillets β
- forment des dimères

Ebola : fusion à la membrane de l'endosome



Le récepteur (NPC1) est intracellulaire !

(Mutation NPC1 => maladie de Niemann-Pick type C)

La fusion est finement régulée

Ne doit pas se produire au mauvais endroit

- A pH neutre (membrane plasmique)
 - Interaction avec le deuxième récepteur protéique (ex : HIV)
 - ...
- Fusion à faible pH
 - un clivage protéolytique active la protéine de fusion (classe I, II)
(ex : Influenza)
 - Récepteur endosomal (ex Ebola)

Entrée des virus dans les cellules animales

1/ Attachement du virus : existence de un ou plusieurs récepteurs spécifiques

2/ Entrée virale

- Fusion à la membrane

Virus enveloppé

- Endocytose

■ Clathrine dépendante (Adénovirus, Influenza)

■ Cavéoline dépendante (SV40)

*Virus enveloppé
ou
non enveloppé*

- Macropinocytose

Entrée des virus dans les cellules animales

1/ Attachement du virus : existence de un ou plusieurs récepteurs spécifiques

2/ Entrée virale (*mécanismes principaux vus dans le cours*)

Virus enveloppés

Fusion à la membrane (VIH)

Ou

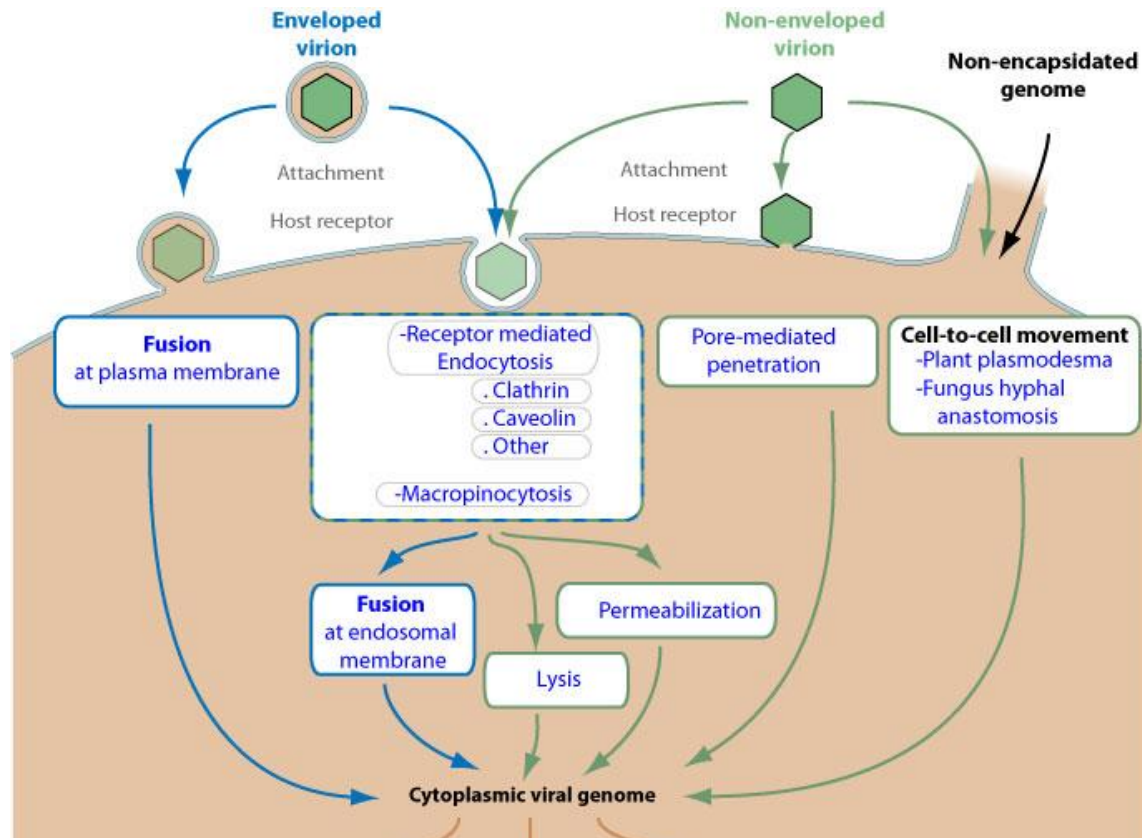
Endocytose / macropinocytose
puis fusion
(influenza, ebola)

Virus non enveloppés

Endocytose / macropinocytose

Puis

Lyse ou perforation de l'endosome
(Adenovirus)



Pour un virus donné : possibilité de plusieurs mécanismes d'entrée

