

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
- *Utilisation du cytosquelette*
- *Passage des pores nucléaires*
- Réplication et expression des génomes
- Sortie des virus

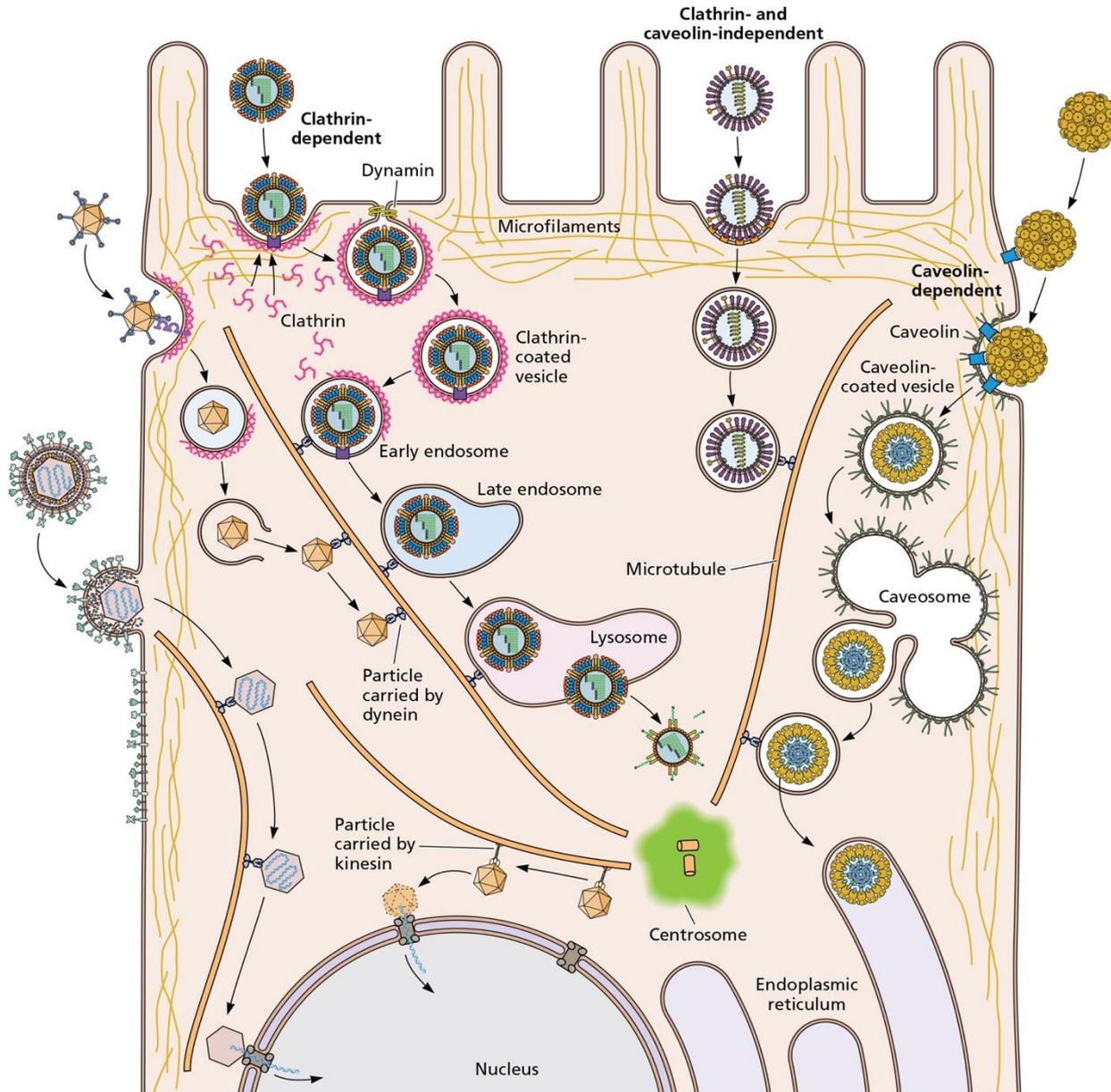
III/ Interaction système immunitaire - virus

Echappement des virus au système immunitaire

IV/ Vaccination et Virologie appliquée

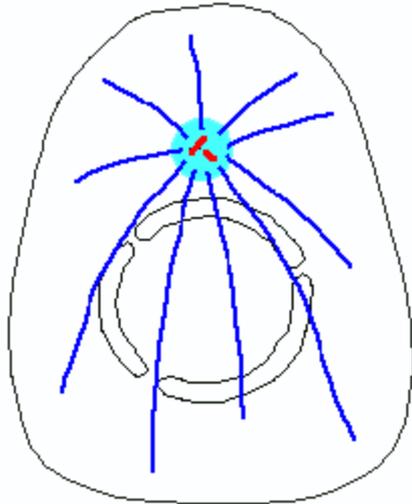
Virus et Cytosquelette

Entrée et déplacements dans le cytoplasme



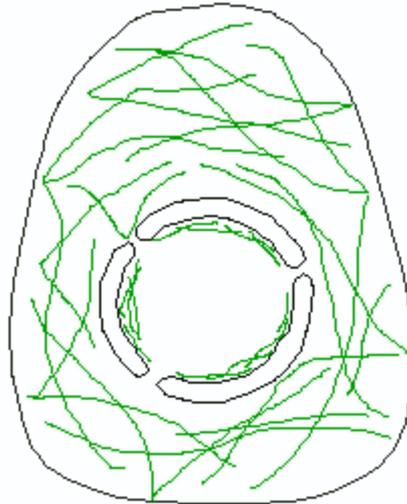
Les 3 types de Cytosquelette

microtubules



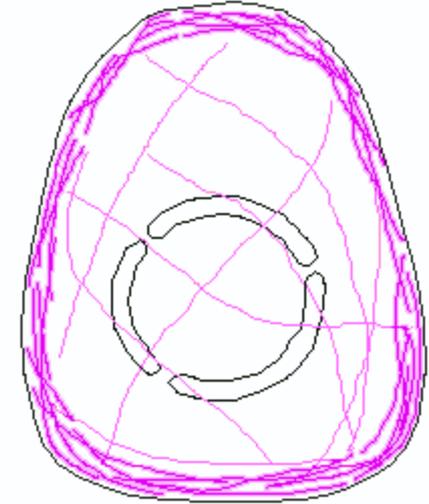
Les microtubules constituent un réseau ayant pour centre le centrosome.
Assemblage non covalent de tubuline α et β

filaments intermédiaires



Les filaments intermédiaires constituent un réseau occupant tout l'espace cytoplasmique. Sous la membrane nucléaire interne ils constituent la lamina.

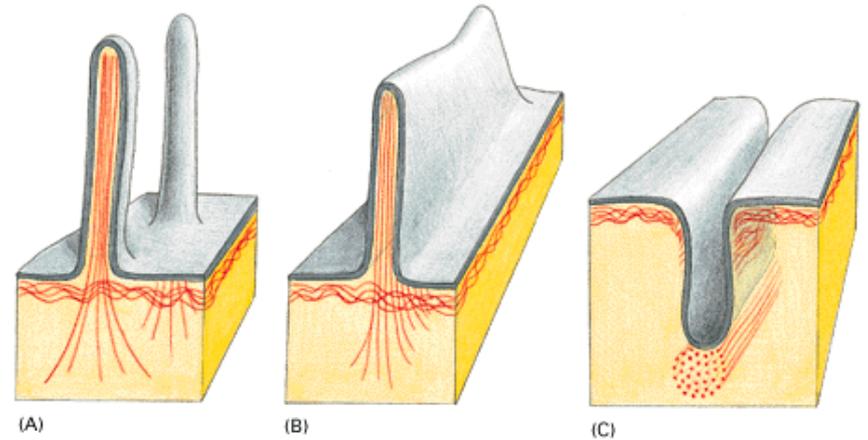
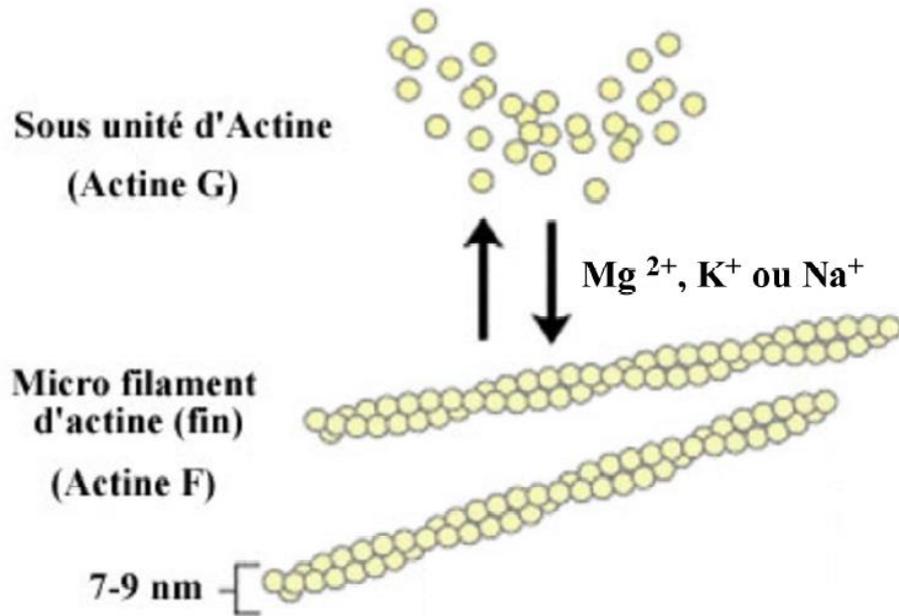
microfilaments d'actine



Les microfilaments d'actine constituent un réseau principalement localisé sous la surface cellulaire.

- Interconnexions entre les 3 types de filaments
- Fonctions coordonnées

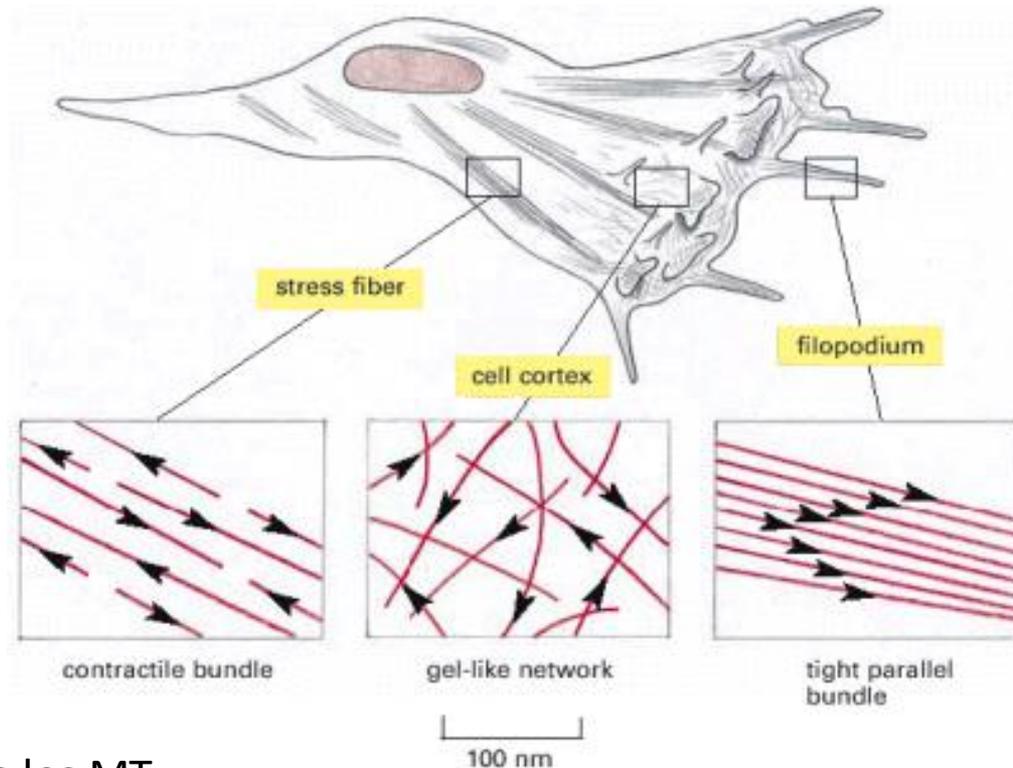
Actine cellulaire



- ➡ Réseau de filaments sous la membrane plasmique
Impliqué dans la formation de lamellipodes....
- ➡ Réseau de filaments dans la cellule

Microfilaments d'actine

2 types de MF *stables* (cortex cellulaire, microvillosités, forme cellulaire) ou *labiles* (mouvements cellulaires, endo-exocytose).



- 30x plus long que les MT
- Souvent associés à d'autres filaments
- ATP/ADP
- inhibiteurs =

Cytochalasine (bout +)

Phalloïdine (tout le long et empêche dépolymérisation)

Les microtubules (MT)

Tubes creux formés par la polymérisation d'une protéine globulaire : la TUBULINE.

Tubuline : association de 2 molécules (tubuline α et β) en dimères

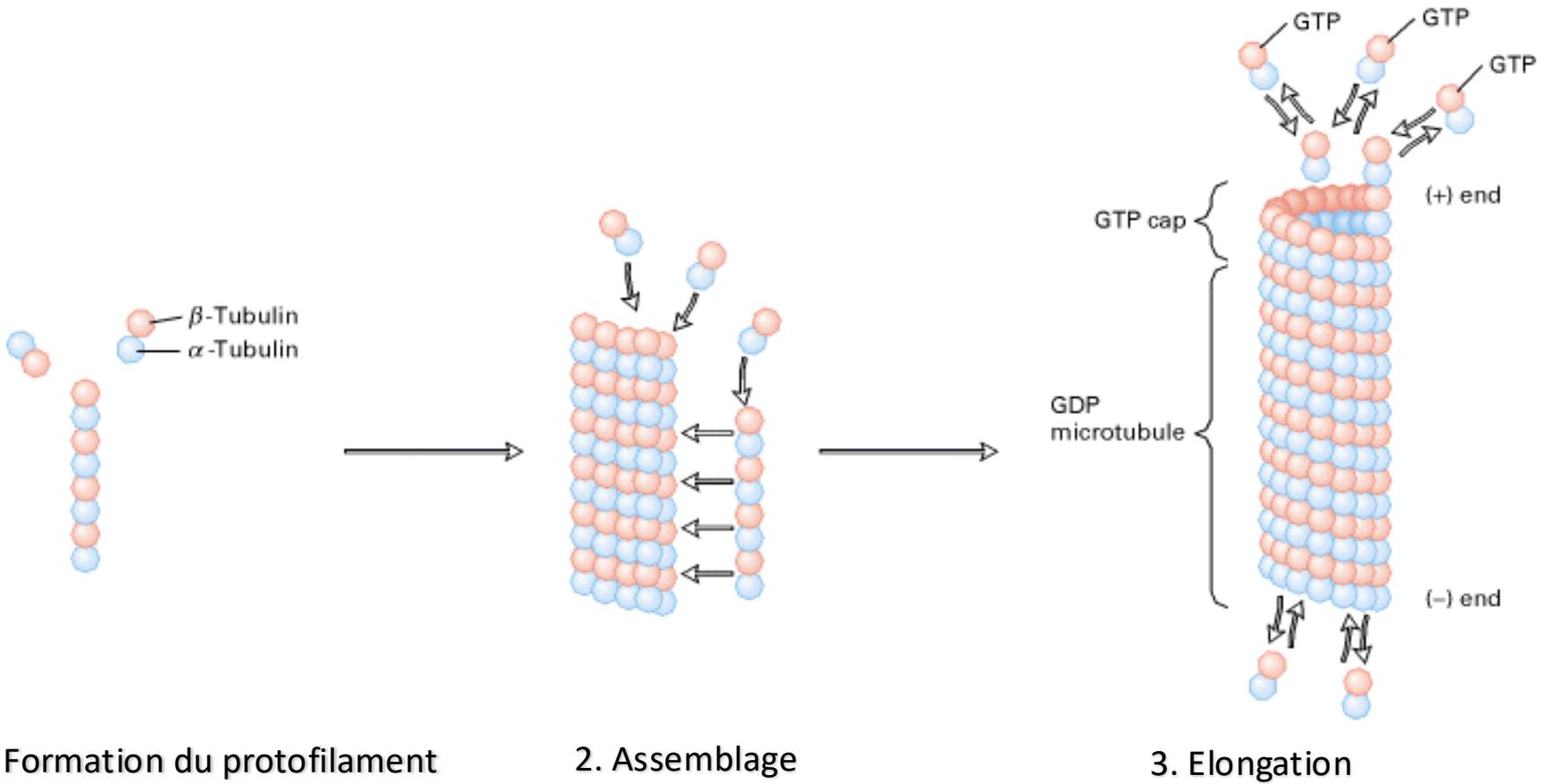


Un microtubule est formé de l'assemblage de 13 protofilaments

- Réseau dynamique qui se polymérise et se dépolymérise continuellement
- Existence de protéines stabilisant les microtubules (MAP)

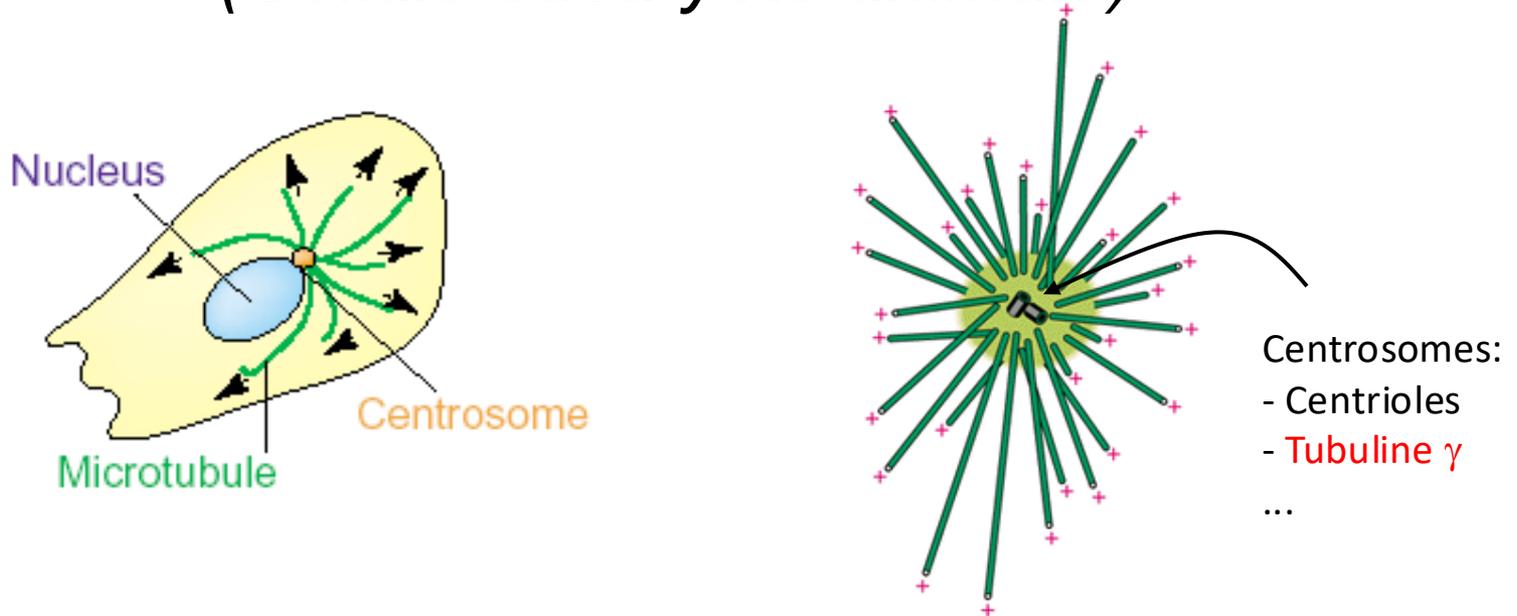
Fonction : transport, trafic vésiculaire, polarité cellulaire et division cellulaire

Polymérisation-dépolymérisation



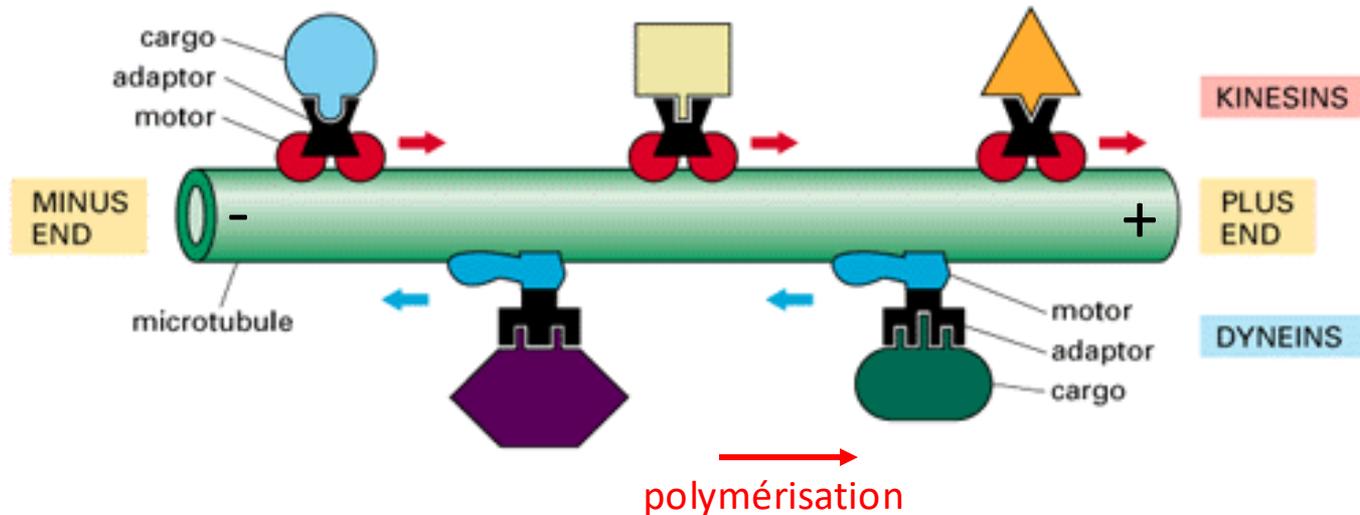
Microtubules et centrosome

(Cellule eucaryote animale)



- Ancrage des microtubules au niveau du centrosome (centre organisateur des microtubules), initiation de la polymérisation
- La polymérisation des microtubules s'effectue dans un sens à partir du centrosome (- +) →

Microtubules et moteurs

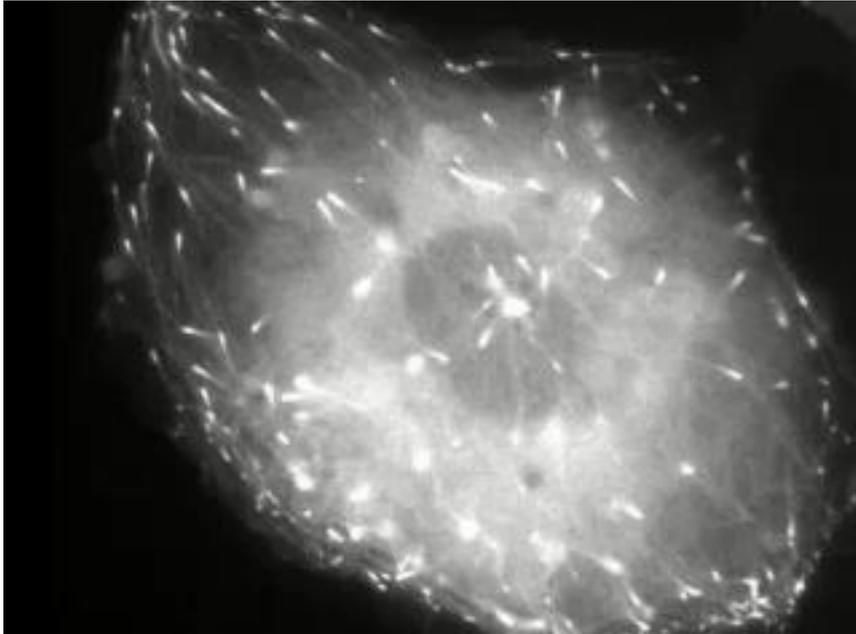


Vers le noyau
moteur : la dynéine

Vers la membrane
Plasmique
moteur: la kinésine

- La dynéine, la kinésine sont des protéines
- Il existe différents adaptateurs protéiques qui permettent de véhiculer différents types de molécules cargo

DYNAMIQUE DES MICROTUBULES IN VIVO



EB1 est une protéine qui se fixe sur les coiffes de GTP-tubuline situées aux extrémités en croissance des microtubules.

GFP-EB1

MOUVEMENT DES ORGANITES SUR LES MICROTUBULES



Les filaments intermédiaires (FI)

- Fibres protéiques de 10 nm de diamètre, polymères de **monomères fibreux**

Différents selon les types cellulaires (spécificité)

Vimentine, kératine...

- Présents dans le cytosol et le nucléoplasme (lamina)

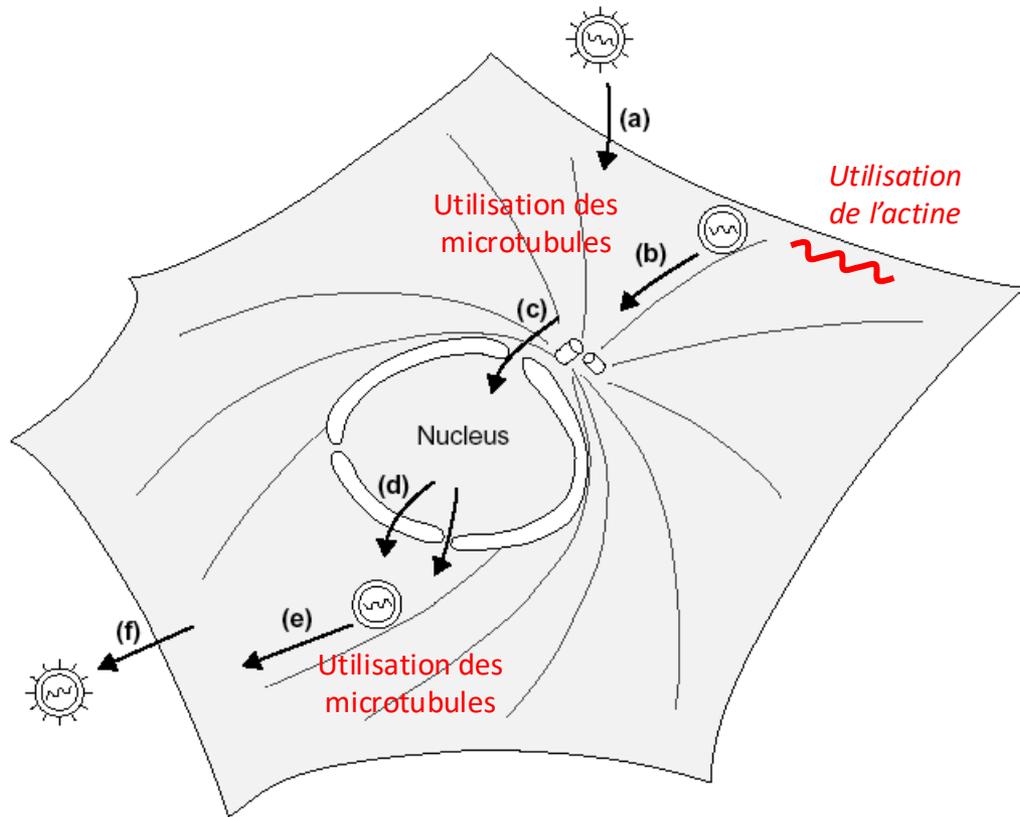
- Non polarisés

- FI + protéines associées = polymères “stabilisés”

Stabilité mécanique : FI résistent mieux à l'étirement que les MT

 Maintien de la morphologie cellulaire

Transport viral et utilisation du cytosquelette



a : entrée de la particule virale

b : transport rétrograde

c : entrée noyau

d : sortie noyau

e : transport antérograde

f : sortie

Le réseau d'actine n'est pas adapté pour conduire au noyau

➡ utilisation des microtubules

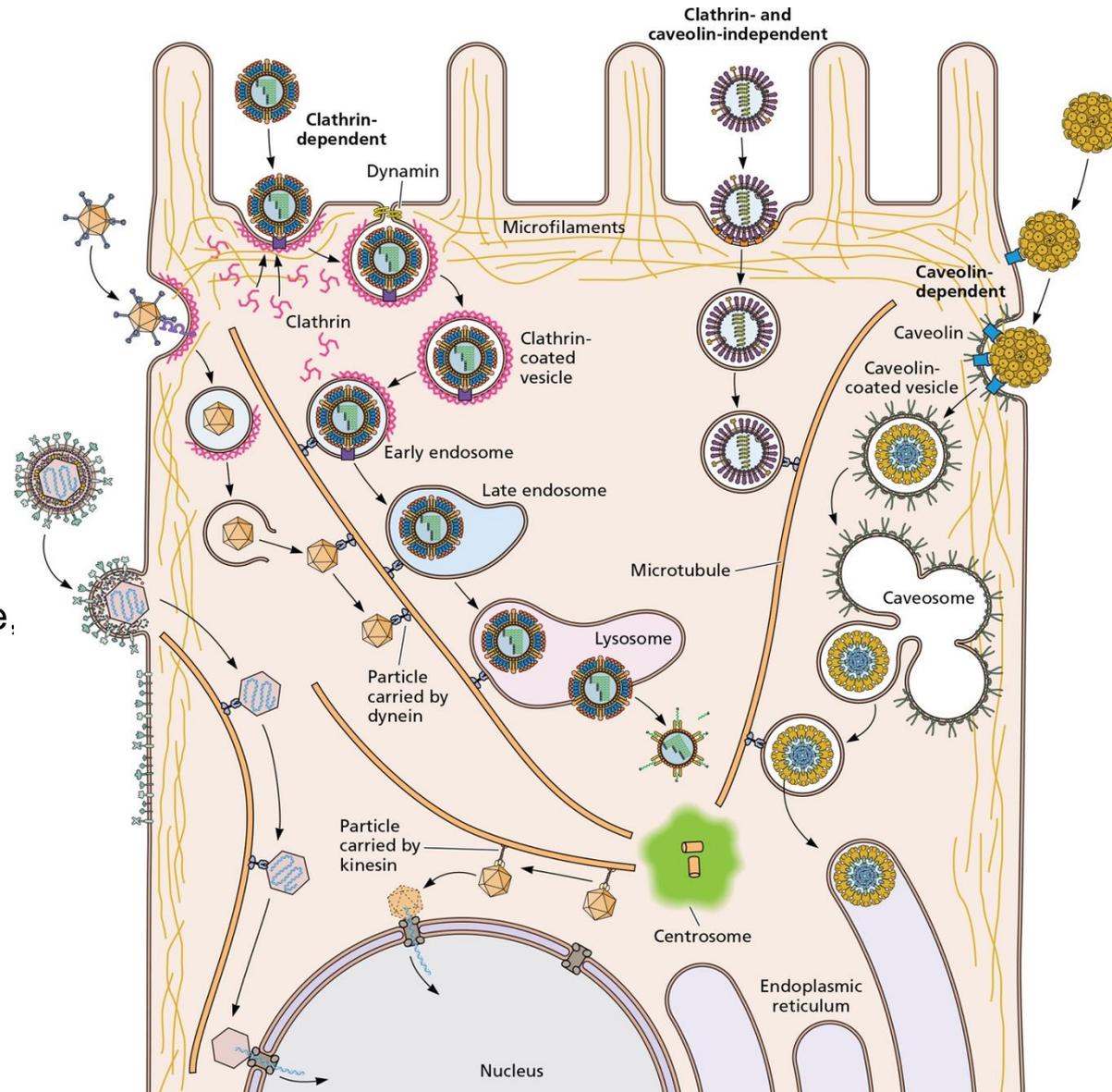
Les modes d'interaction avec le cytosquelette diffèrent selon le mécanisme d'entrée

Libération précoce de la capside, interaction directe avec le cytosquelette

Ex : adénovirus

Fusion avec la membrane plasmique, interaction directe avec le cytosquelette

Ex : rétrovirus (HIV, HSV1)

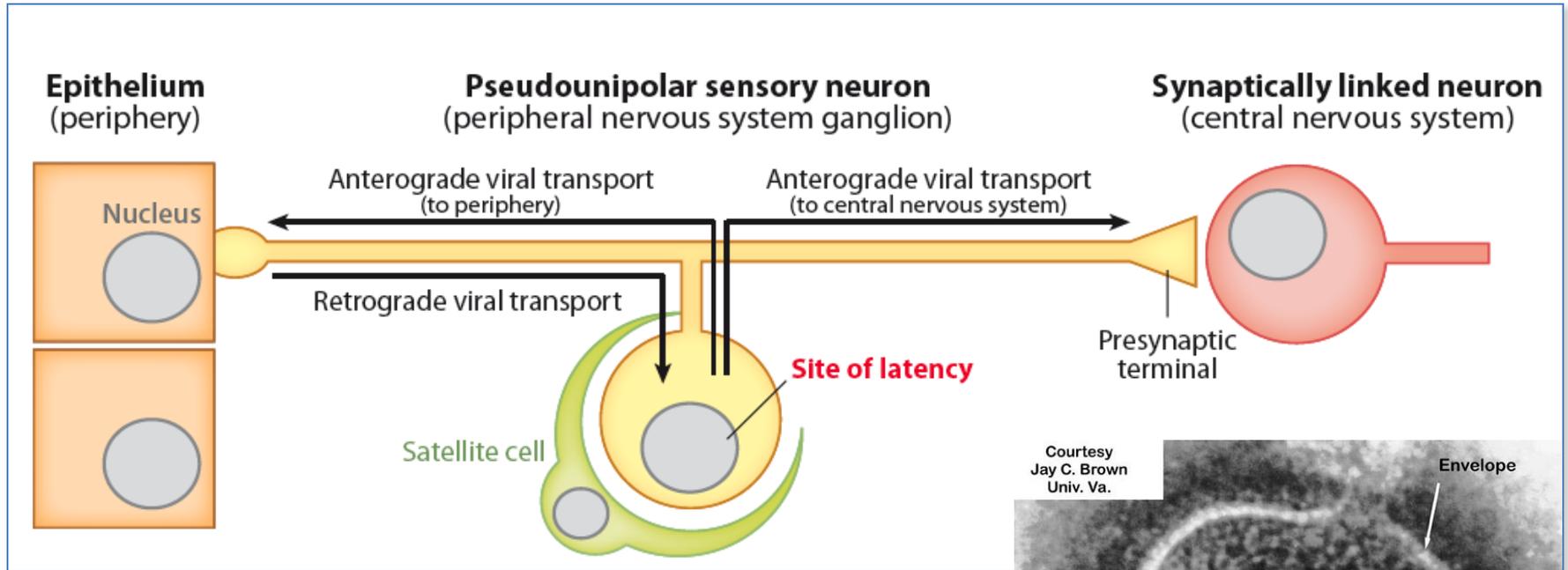


Interaction indirecte par le biais d'une vésicule

Ex : SV40

Transport rétrograde

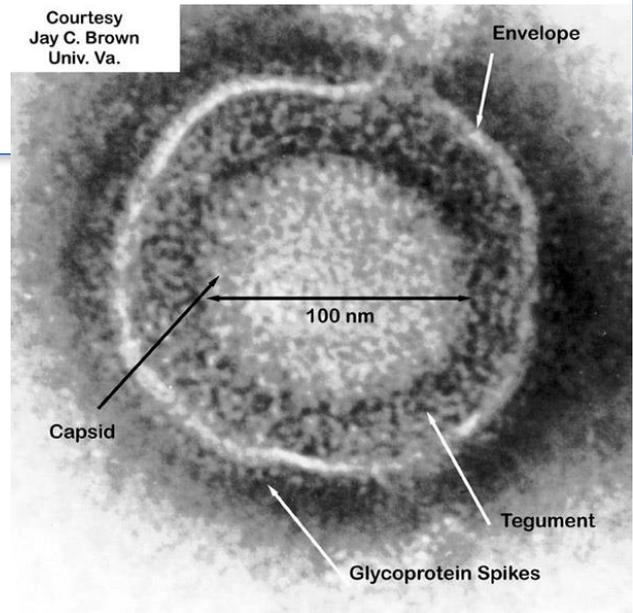
Le virus de l'herpes (HSV1)



Annu. Rev. Microbiol. 2012. 66:153–76

Infection de neurones

➔ Déplacement le long de l'axone



Transport actif ?

cytosol : visqueux  coefficient de diffusion plus faible /eau

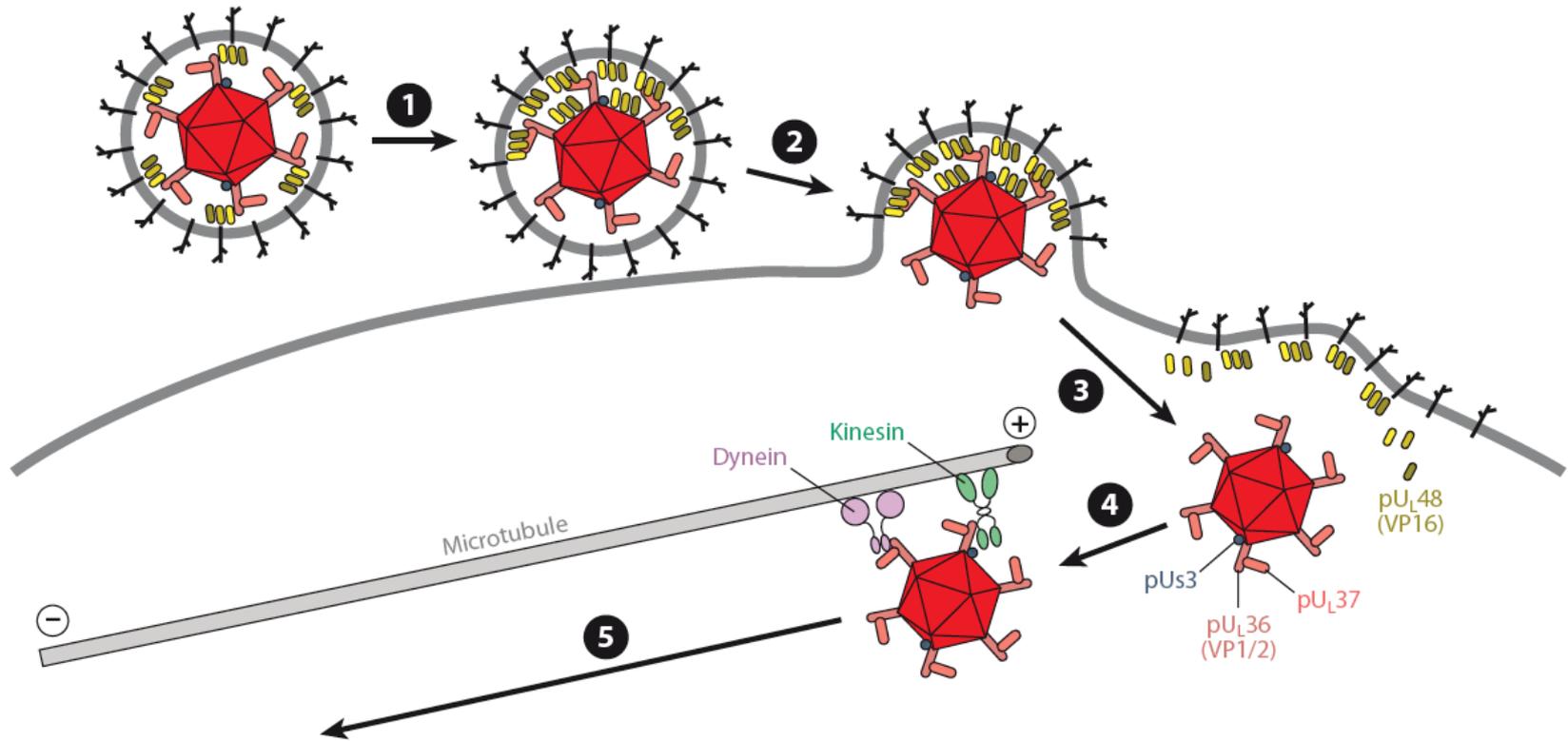
Exemple Virus de l'Herpes

En théorie	Eau : 14 s pour 10 μm
	Cytoplasme : 2h pour 10 μm

En cellule : 7s pour 10 μm (*vidéo microscopie*)

 Transport actif

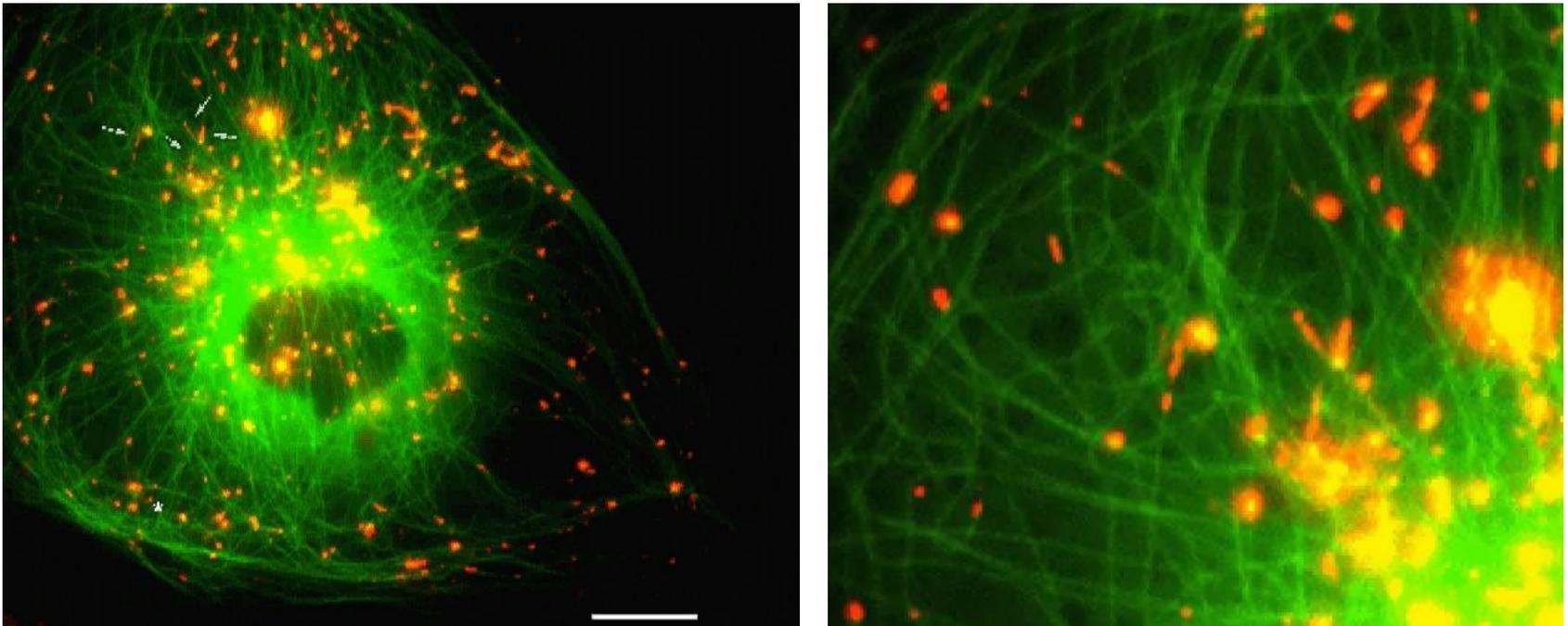
1ères étapes de l'infection par l'herpes



1. Attachement
2. Entrée par fusion
3. Nucléocapside libérée dans le cytoplasme
4. Association de la nucléocapside avec les moteurs moléculaires
5. Transport rétrograde (en direction du soma)

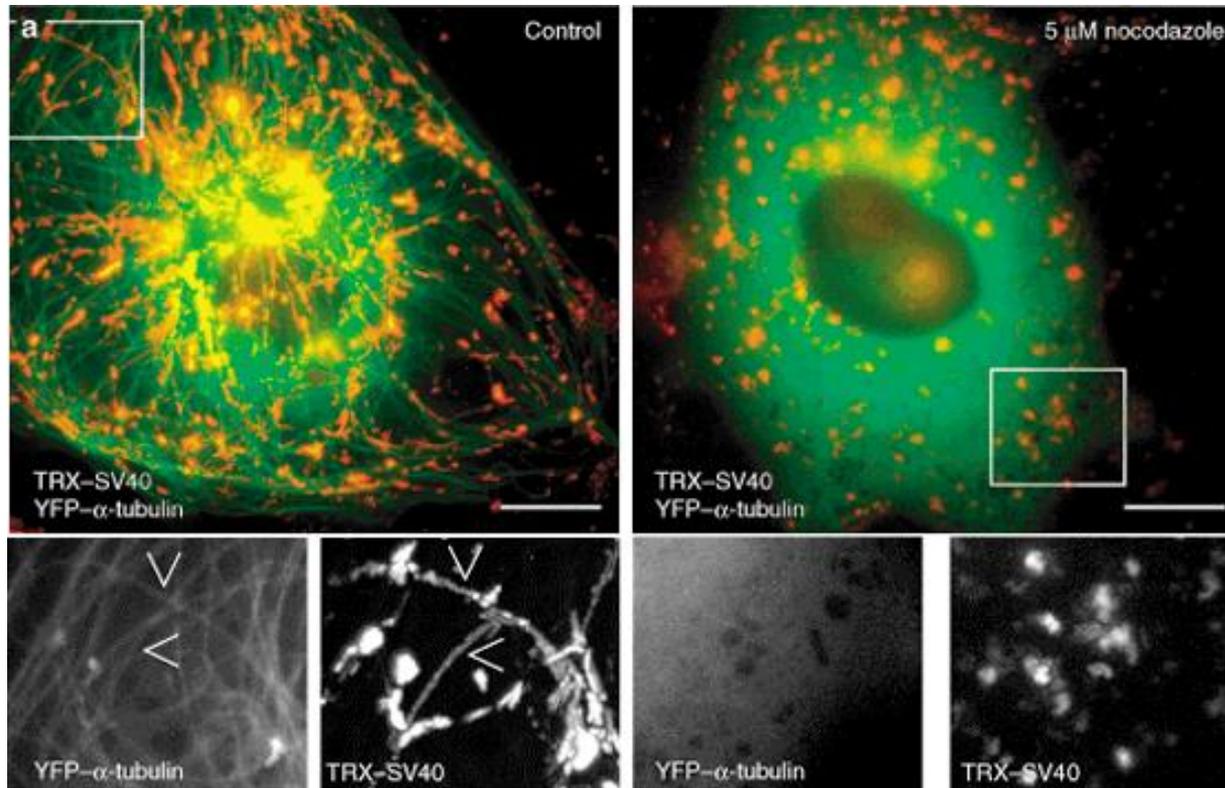
SV40 et cytosquelette (1)

Cellules exprimant YFP- α -tubulin et infectées avec un virus TRX-SV40
Analyse par vidéomicroscopie 4hrs après fixation du virus (37° C)



SV40 et cytosquelette (2)

Cellules exprimant YFP- α -tubulin et infectées avec un virus TRX-SV40
Analyse par vidéomicroscopie 4hrs après fixation du virus (37° C)



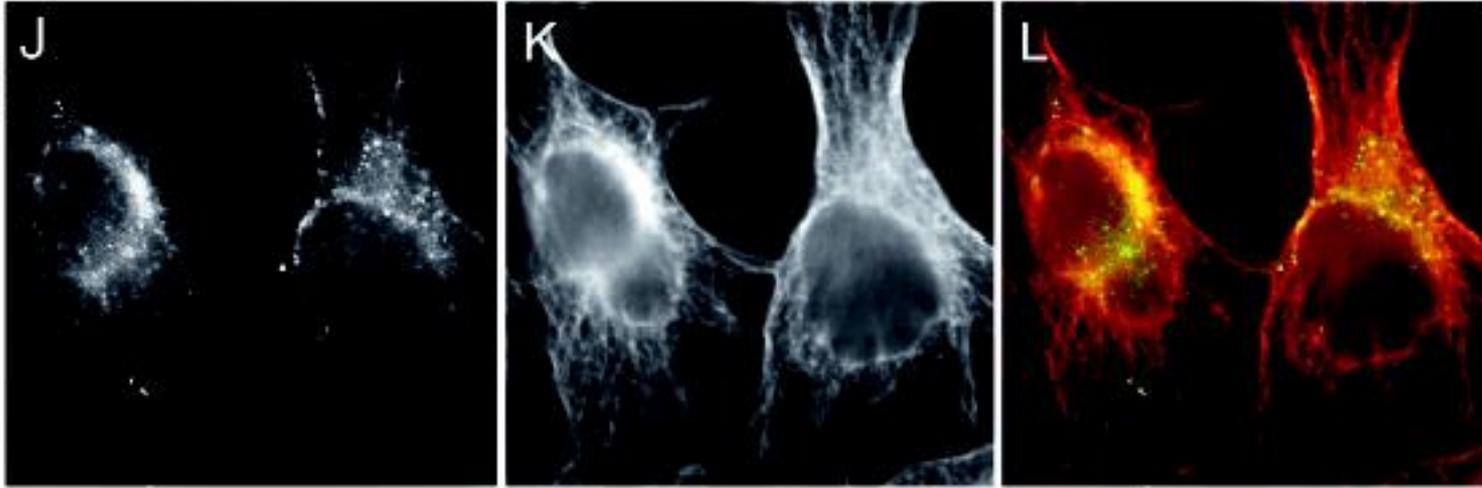
Nocodazole :
inhibe la
polymérisation des
microtubules

merged recording : 52 frames, 4-s intervals

adénovirus

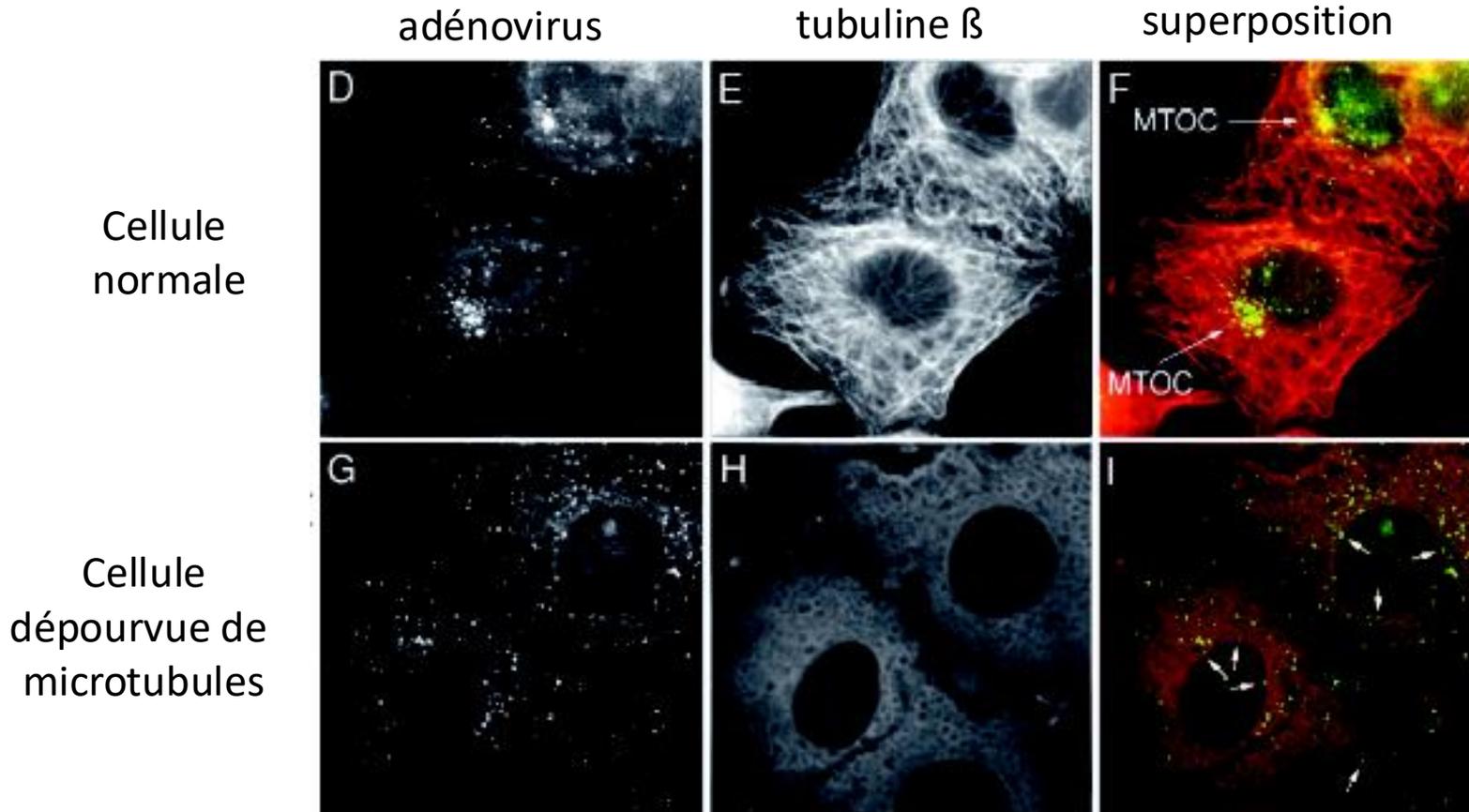
tubuline β

superposition



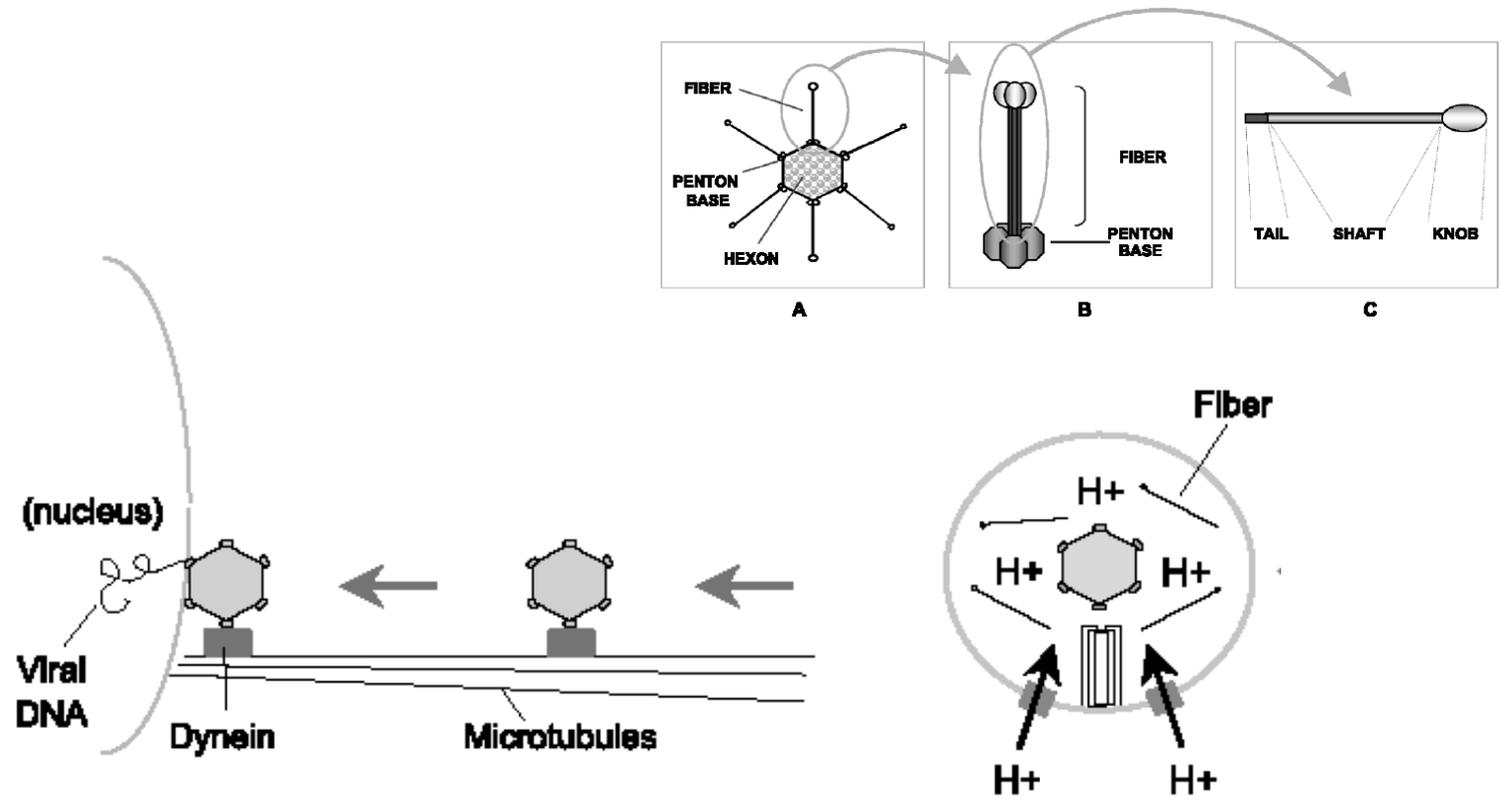
Emprunte les microtubules

Adénovirus et microtubules



Emprunte les microtubules  converge vers le centrosome

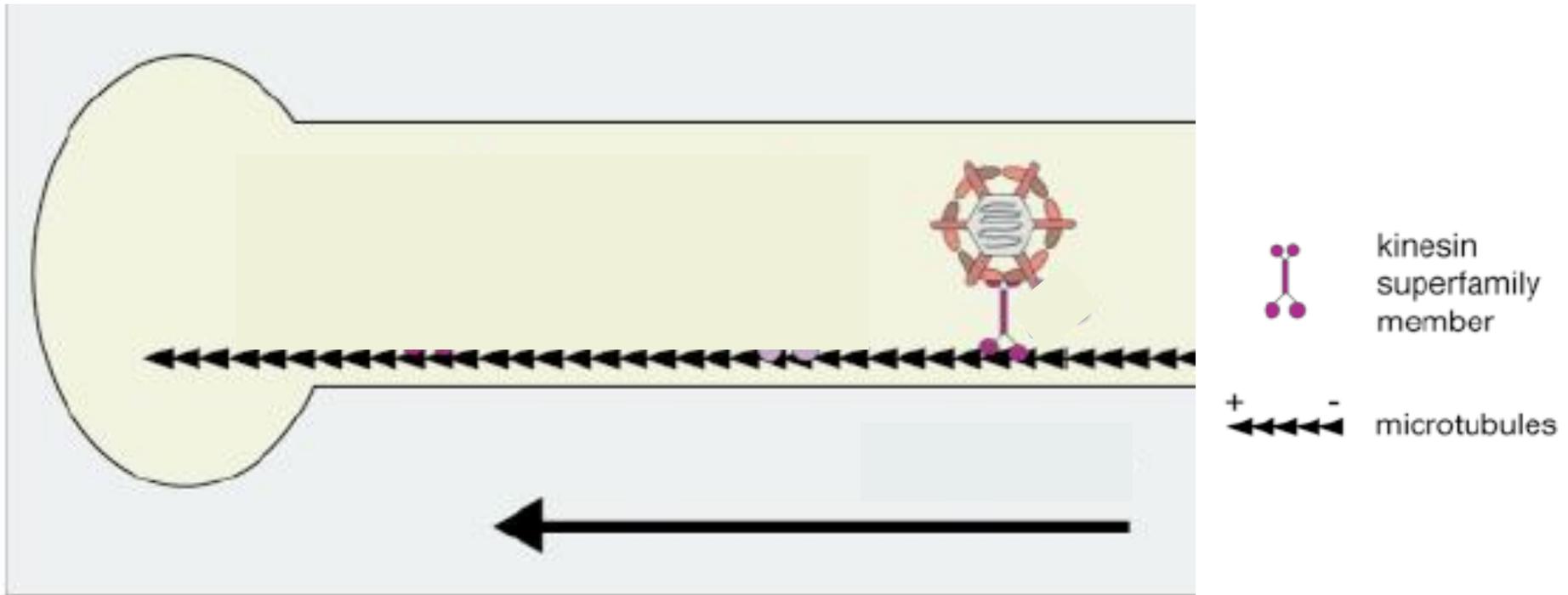
Adénovirus et microtubules



La protéine de capside (penton) interagit avec la dynéine

Transport antérograde

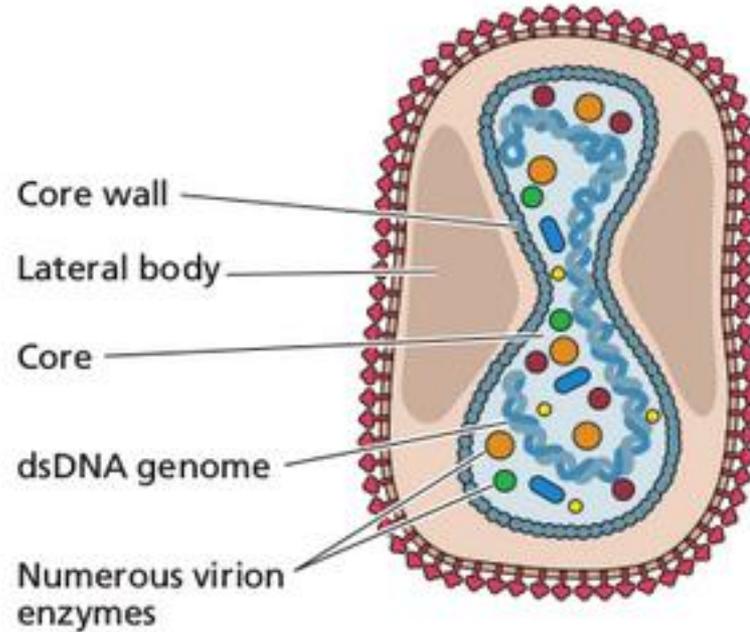
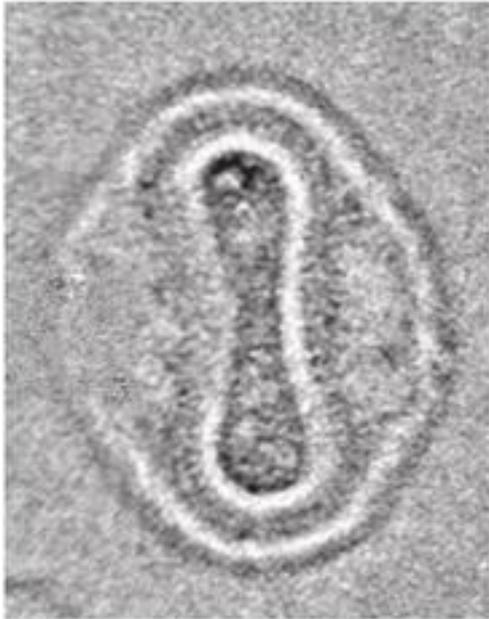
Similaire au transport rétrograde sauf que les moteurs utilisés ne sont pas les mêmes



Exemple herpes, interaction avec la kinésine

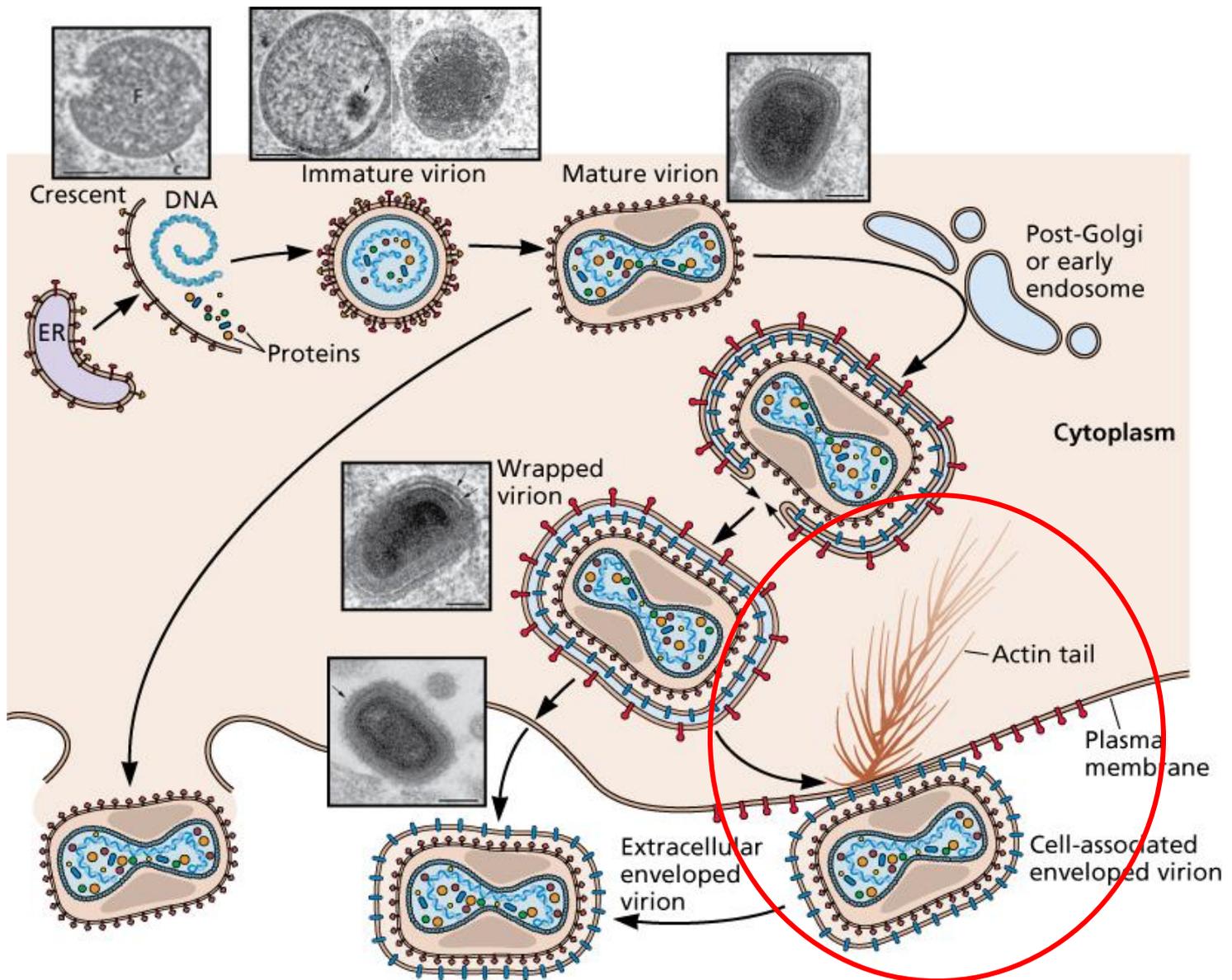
Actine et virus de la vaccine

360 nm

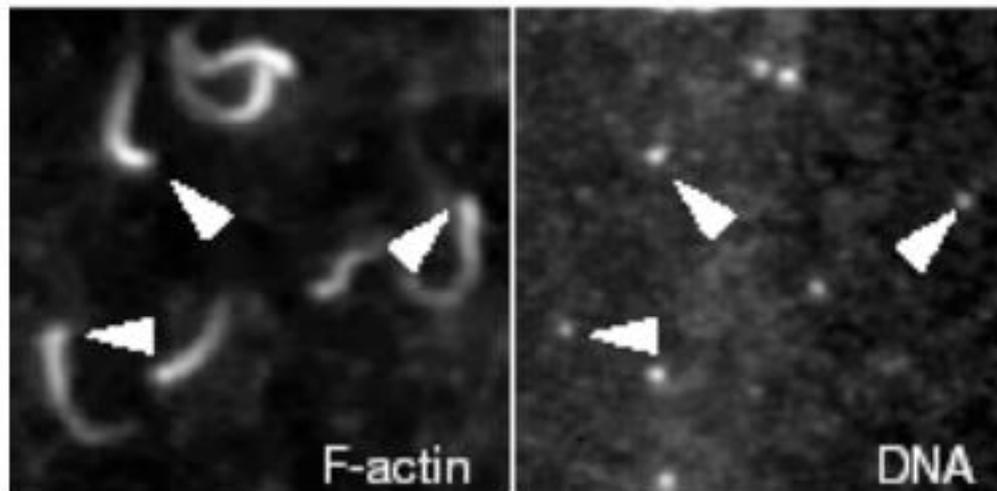
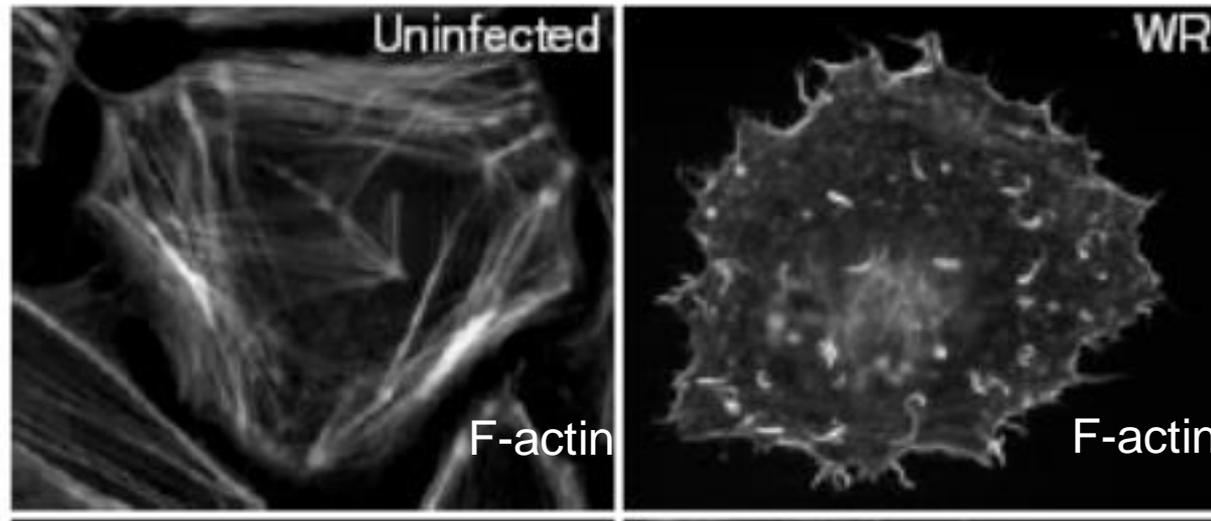


Famille des *Poxviridae* (apparenté au virus de la variole)
Génome ADNdb

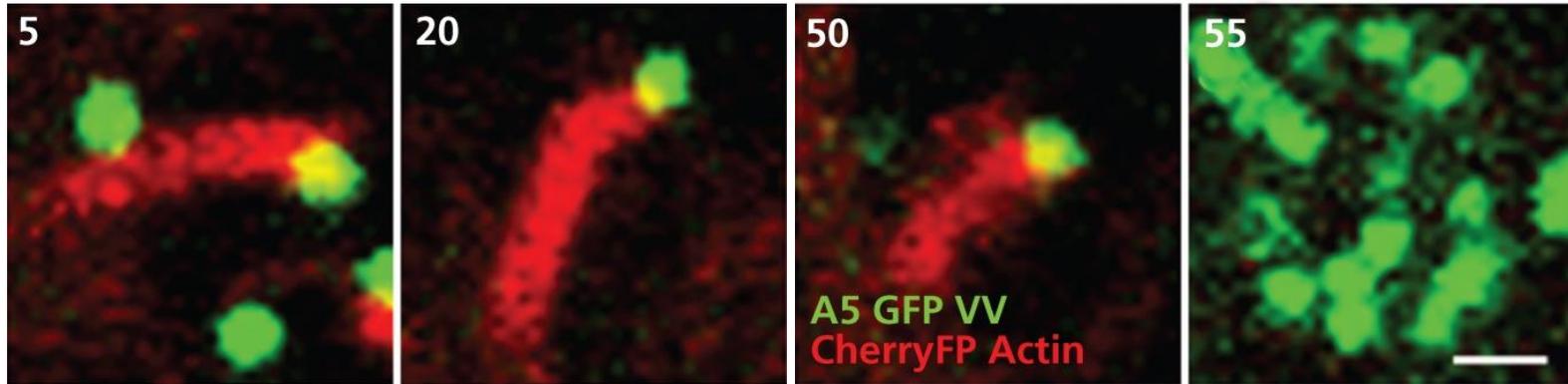
Le virus de la vaccine mobilise l'actine



Modifications du cytosquelette d'actine au cours de l'infection par le virus de la vaccine



Rôle dans la dissémination des virions



C. Doceul et al., *Science* 327:878–867

- Peu après l'infection, les protéines A33 et A36 du virus de la vaccine sont exprimées sous forme de complexe à la surface de la cellule.
- les virions surinfectants (ainsi que les néo virions) sont ainsi repoussés par la formation de projections d'actine sous la particule virale.
- Les virions sont repoussés des cellules infectées de façon répétée => accélération de la dissémination des virions

Conclusion sur l'utilisation du cytosquelette

- Utilisation des moteurs moléculaires

 - Dynéines pour le transport rétrograde

 - Kinésines pour le transport antérograde

- Certains virus utilisent le cytosquelette et le désorganise

 - Ex* : virus de la vaccine et actine

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
- *Utilisation du cytosquelette*
- *Passage des pores nucléaires*
- Réplication et expression des génomes
- Sortie des virus

III/ Interaction système immunitaire - virus

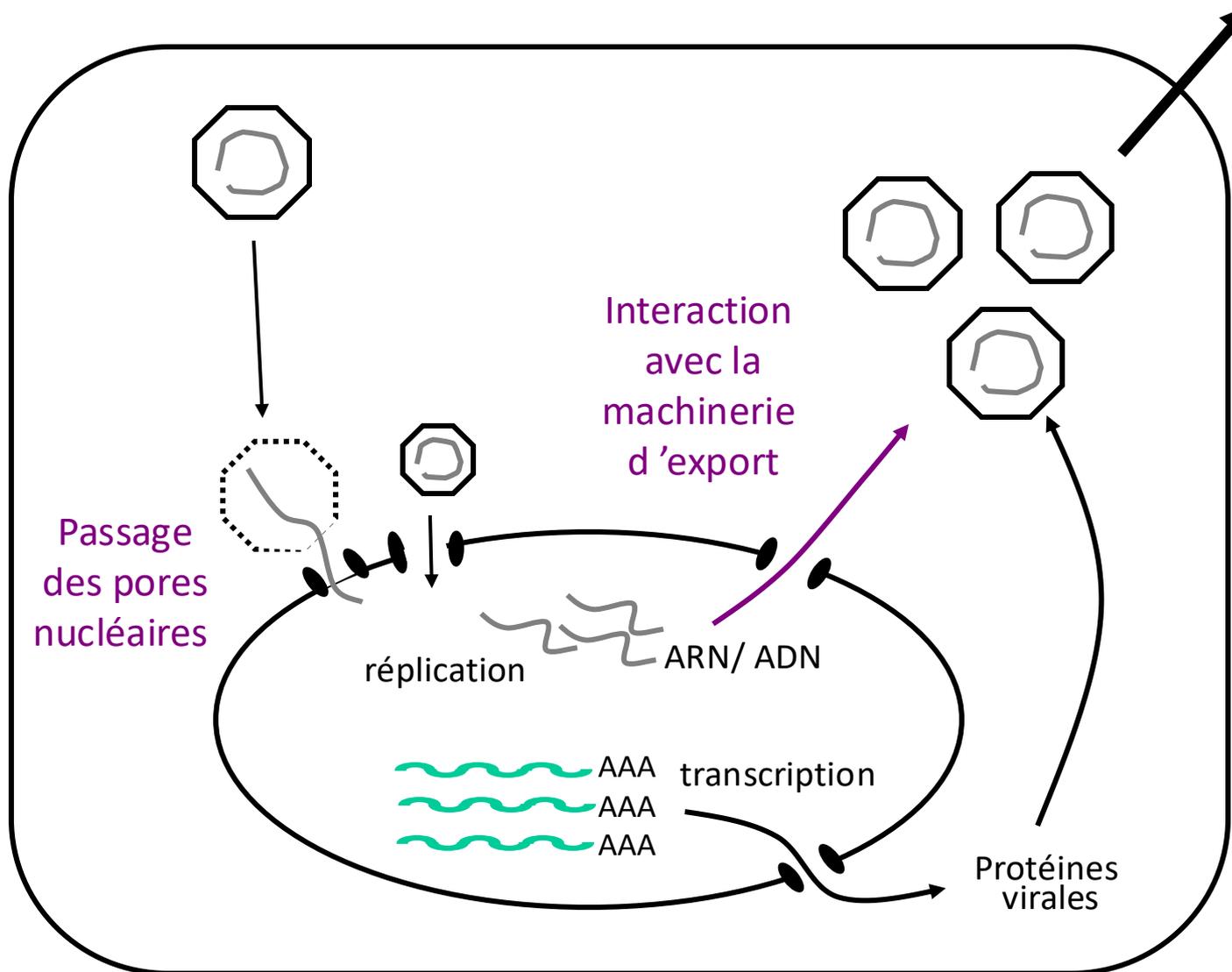
Echappement des virus au système immunitaire

IV/ Vaccination et Virologie appliquée

Import des génomes viraux dans le noyau

- Le cycle reproductif de la plupart des virus ADN, et celui de certains virus à ARN (dont les rétrovirus, le virus de la grippe,...) débute dans le noyau
- Ces génomes doivent donc être importés du cytoplasme au nucléoplasme

Import des génomes viraux dans le noyau

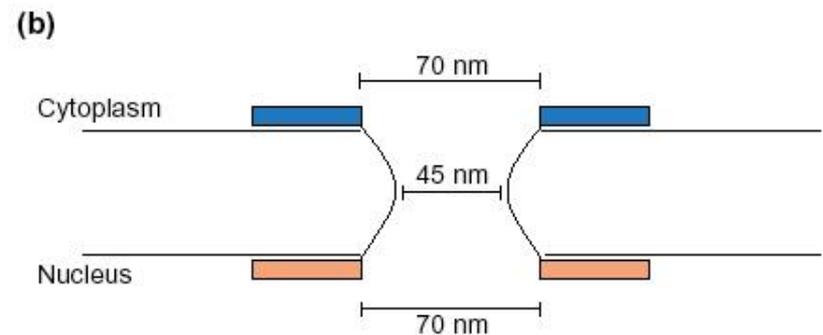
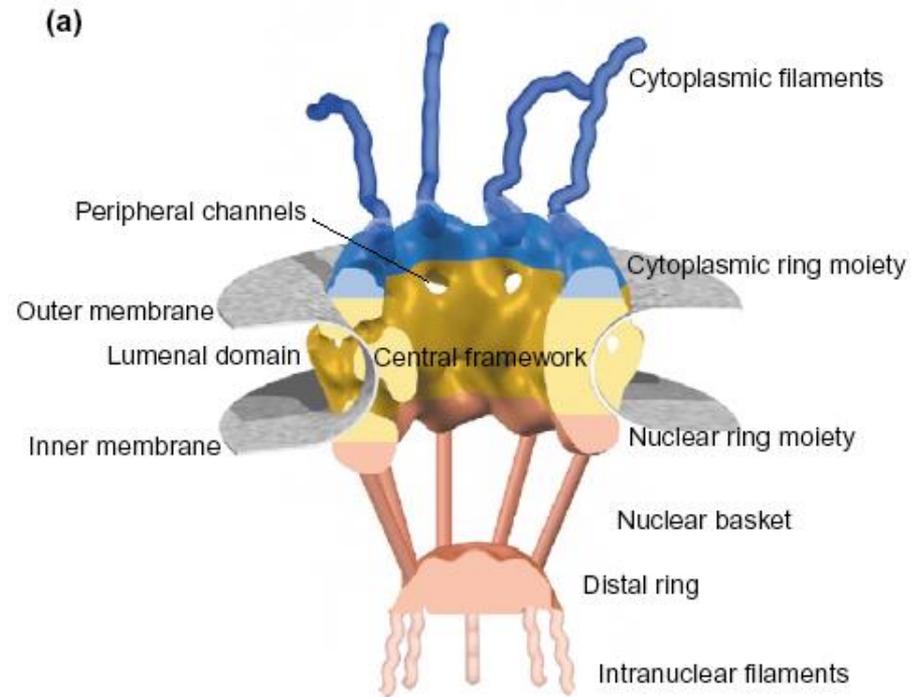


Le pore nucléaire

Dans l'enveloppe nucléaire existence de pores permettant le passage des macromolécules entre le cytoplasme et le noyau

- Constitué d'une trentaine de protéines appelées des nucléoporines
- Participe au transport actif des molécules du cytoplasme vers le noyau

Import nucléaire



Passage des pores nucléaires

Toute particule virale supérieure à 39 nm ne passe pas intacte le pore nucléaire

2 stratégies :

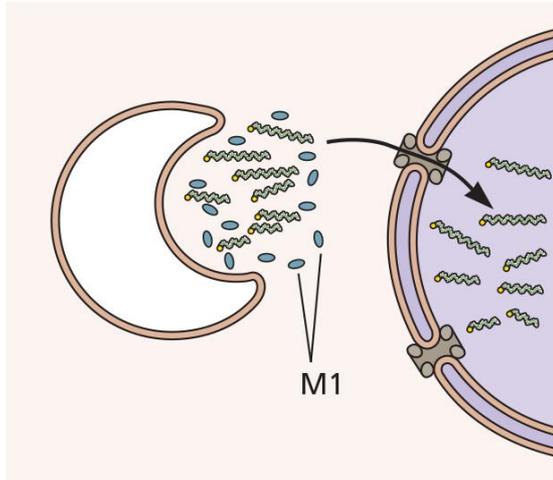
- **Passage en mitose** = profiter de la rupture de l'enveloppe nucléaire au cours de la division cellulaire (cas de certains retrovirus).

Problème : virus infectant des cellules quiescentes

- **Emprunter les voies cellulaires d'import des protéines dans le noyau**

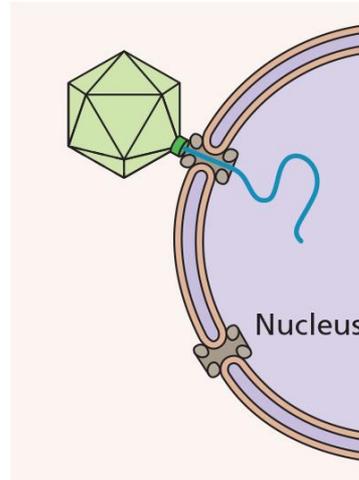
Passage des virus à travers les pores nucléaires

A **Virus de l'influenza**



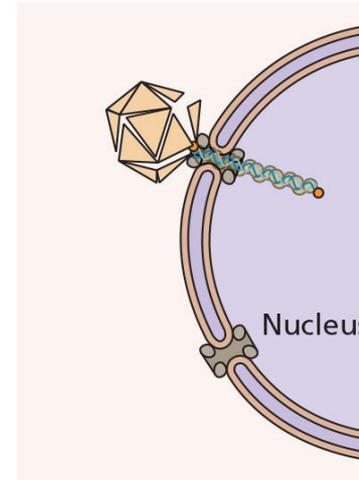
les ARNs recouverts de nucléoprotéines (libérés de l'endosome) sont <39 nm.

B **Herpès**

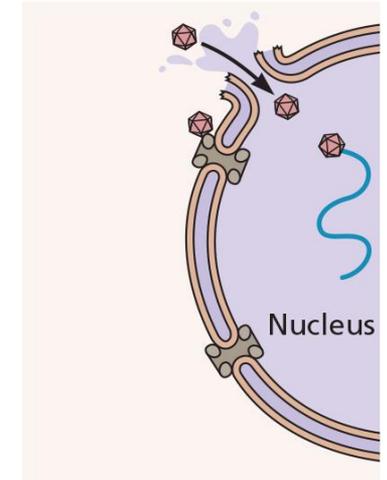


Étape de désencapsidation

C **Adenovirus**



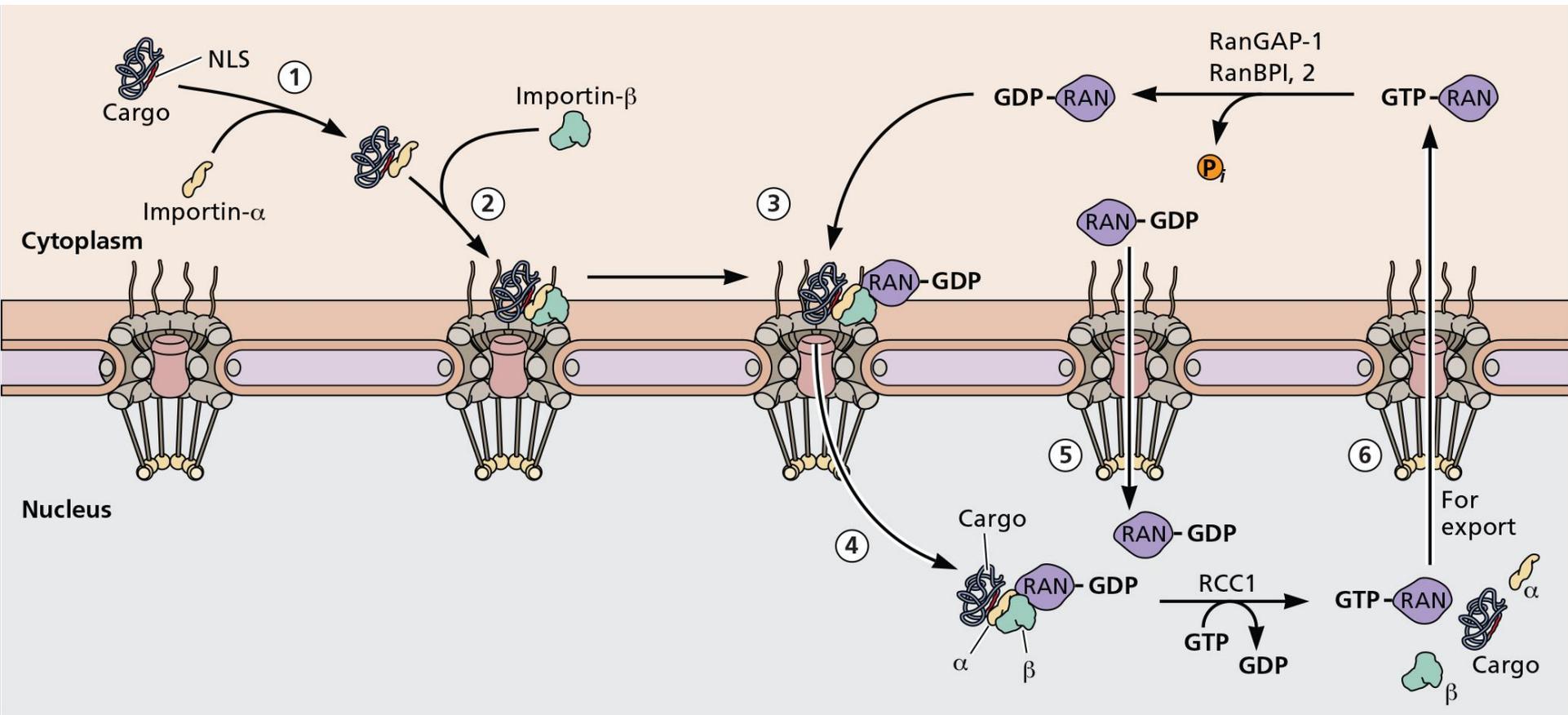
D **SV40**



Particule <39nm

Dans tous les cas interactions des virus avec la machinerie d'import nucléaire

Mécanismes d'import nucléaire des macromolécules



Data from Yang Q et al. 1998. *Mol Cell* 1:223-234.

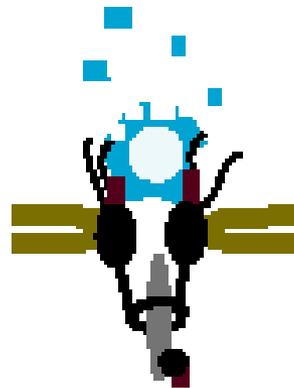
Les virus codent des protéines virales possédant des domaines NLS, qui interagissent avec les importines

Virus de Influenza



Nucléoprotéine NP interagit avec l'importine β

Adénovirus herpes



- Herpès se lie au pore nucléaire:
Pas de désassemblage, formation d'un canal permettant la sortie de ADN

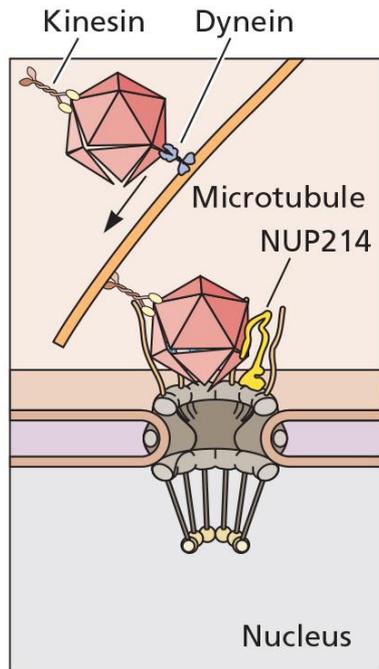
- Adénovirus : protéine de capsid interagit avec les fibrilles cytoplasmique, ancrage puis désassemblage

SV40

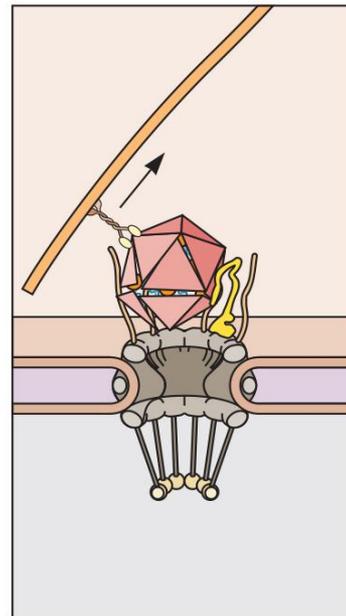


Protéine de capsid possède un domaine NLS

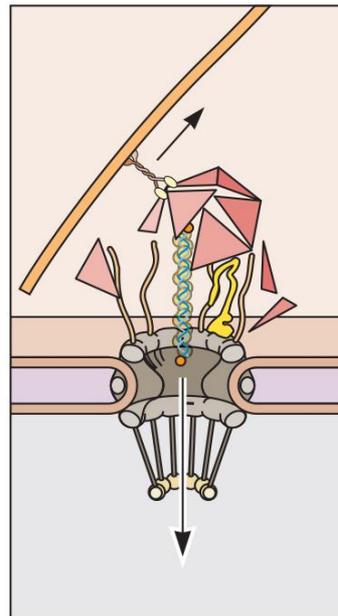
Décapsidation de l'adénovirus au niveau des pores nucléaires



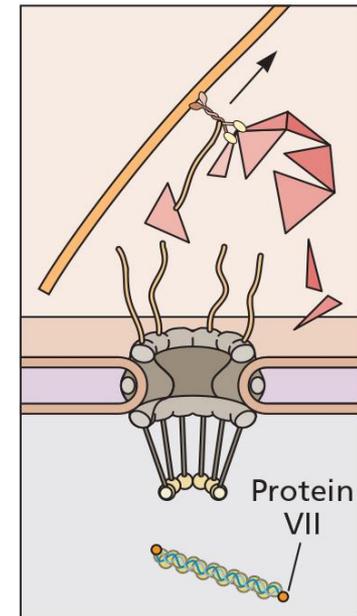
La nucléocapside est transportée vers le noyau (interaction avec la dyneïne)



Au niveau du pore nucléaire, la nucléocapside interagit avec la protéine NUP214 (jaune) et aussi avec la kinésine.



Ces interactions provoquent le désassemblage de la capside,



L'ADN viral est alors libéré dans le nucléoplasme

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