

# Réplication du VIH : l'étape de l'épissage

*La résistance du VIH à certaines combinaisons d'antirétroviraux rend prioritaire l'innovation en matière de cibles thérapeutiques et d'outils contre le virus. Laquelle passe par une compréhension toujours plus fine des mécanismes d'infection et de réplication du VIH. Des chercheurs mettent en avant l'intérêt d'étudier Rev, une protéine virale intervenant dans le transport des ARN-VIH.*

**L**ors des premières étapes du cycle de réplication du VIH, la particule virale s'accroche sur un récepteur, au niveau de la membrane de la cellule cible. Elle arrive avec un matériel génétique sous forme d'ARN<sup>1</sup> (acide ribonucléique). L'ARN-VIH est transformé en ADN-VIH (acide désoxyribonucléique) par la transcriptase inverse et s'intègre dans le génome de la cellule hôte. À ce stade, le virus est présent dans la cellule sous la forme de provirus. L'ADN-VIH se comporte alors comme l'ADN de la cellule.

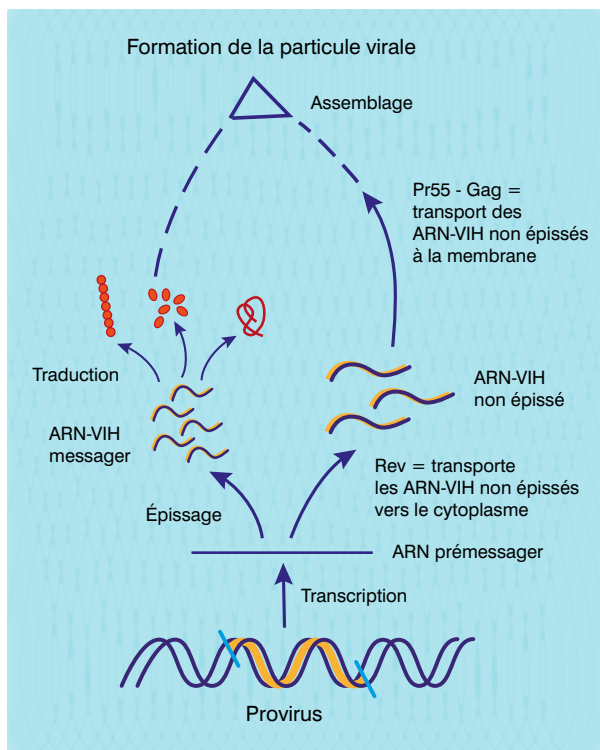
**L'étape « épissage ».** Au niveau du génome, l'ADN est transcrit en ARN. L'ARN produit n'est pas encore mature et ne sort pas du noyau de la cellule. Il doit auparavant passer par l'étape dite d'épissage. Il s'agit d'une forme d'édition où certains fragments de l'ARN seront gardés et

d'autres éliminés. Les parties conservées seront assemblées, comme un texte dont on aurait supprimé les passages inutiles pour mettre les phrases restantes bout à bout, en en modifiant éventuellement l'enchaînement (voir figure p. 29). Ainsi, un seul gène peut donner naissance à plusieurs protéines à partir d'un seul ARN initial dit pré-messager et, par une maturation différente, donner lieu à un « texte » différent. L'ARN, mature, qui sort du noyau est l'ARN messager (ou ARNm) : il a perdu une grande partie de ce qui a été transcrit et pourra être traduit en protéine. Dans le cas du VIH, l'objectif est de former des nouvelles particules virales (ou virions). Dans un premier temps, l'ARN-VIH qui a suivi le processus de maturation à partir du provirus, engendrera les protéines Tat et Rev. Celles-ci ont un rôle particulier pour la suite de la production des protéines virales. Tat suractivera la transcription de l'ADN-

## Description par Jamal Tazi des travaux *in vivo* avec ABX464

« Afin d'observer quelle pouvait être l'efficacité *in vivo* de la molécule que nous avons mise au point, nous avons travaillé avec des souris humanisées infectées par le VIH. Traitées par antirétroviraux, leur charge virale devient indétectable en trois semaines. Après arrêt des traitements, un rebond viral est observé au bout d'une semaine. Ce rebond est lié au provirus qui permet au VIH de se maintenir dans l'organisme de manière latente, à l'abri des traitements et du système immunitaire. Nous avons traité des souris avec ABX464, uniquement en prise quotidienne, pendant quatre semaines. La charge virale est devenue

indétectable et, à l'arrêt du traitement, nous n'avons pas observé de rebond viral, même après deux mois d'arrêt. Actuellement, nous cherchons à comprendre l'effet prolongé obtenu. Il est possible que nous ayons mis en place un système qui ne produit plus de virus, mais uniquement des produits de l'épissage exposés par les cellules infectées, rendant visible ces dernières pour le système immunitaire, sans pour autant qu'elles produisent des virions. Une interprétation qui reste toutefois à confirmer. La suite de ce travail est en cours et nous allons prochainement tester l'innocuité de la molécule chez l'homme. »



VIH. Mais seule une partie de l'ARN-VIH doit être épissée pour donner des protéines VIH (protéines fonctionnelles ou enzymes, comme la transcriptase inverse ou la protéase), car une partie de l'ARN-VIH doit être gardé pour devenir le matériel génétique des futurs virions. C'est Rev qui bloquera l'épissage dans certains cas et transportera l'ARN-VIH non épissé (génomique) du noyau vers le cytoplasme. Cet ARN-VIH constituera le génome du virus et pourra également être à l'origine de certaines protéines du virion (les protéines de structures, formant la matrice, la capsid et la nucléocapsid, ainsi que les enzymes transcriptase inverse, protéase et intégrase).

**La protéine Rev.** Le Pr Jamal Tazi, de l'Institut de génétique moléculaire (Montpellier), explique que la protéine Rev agit sur deux points principaux : « Elle gêne physiquement la machinerie de l'épissage et elle détourne la voie de transport des ARN afin de favoriser un transport spécifique au VIH pour la formation de virions. » Rev interagit avec une zone particulière des ARN-VIH, nommée « RRE » (pour « REV Responsive Element »), intervenant dans le transport de l'ARN-VIH non ou partiellement épissé. L'épissage et le transport de l'ARN-VIH sont tous deux contrôlés par CBC (Cap-binding Complex : un complexe protéique qui interagit avec une partie que l'on nomme « la coiffe », située à une extrémité de l'ARN). Dans des travaux récents, Jamal Tazi et son équipe ont élaboré une molécule capable d'interagir avec CBC et de bloquer l'interaction CBC-Rev<sup>2</sup>. « Nous avons développé une molécule nommée "ABX464", qui cible une zone de CBC en interaction avec Rev et qui n'est pas impliquée dans d'autres

interactions pour la vie de la cellule, explique-t-il. Ainsi, il n'y a pas d'effet général sur l'épissage. En revanche, la protéine Rev ne peut plus jouer son rôle pour garder des ARN-VIH non épissés. Nous avons démontré qu'il y avait une diminution de ces derniers et des protéines de structure du VIH et une augmentation des ARN-VIH épissés. » La piste est particulièrement intéressante, car elle ouvre le champ d'une éventuelle nouvelle famille de traitements anti-VIH.

**L'étape « transport des ARN-VIH non épissés ».** Suite à l'action de Rev, et en l'absence d'ABX464, une partie de l'ARN-VIH n'est donc pas épissée et doit être transporté à la membrane de la cellule où il sera empaqueté pour former de nouveaux virions. C'est la protéine virale Pr55-Gag qui reconnaît ces ARN-VIH et dirige cette étape. « En amont de la mise au point d'éventuels inhibiteurs, il s'agit de comprendre dans le détail ce mécanisme », explique le chercheur Roland Marquet, de l'unité Architecture et réactivité de l'ARN à l'université de Strasbourg. Avec ses collaborateurs, il a pu obtenir la protéine Pr55Gag entière et étudier son interaction avec l'ARN-VIH épissé ou non. Il cherche à établir ce qui est fondamental à cette étape<sup>3</sup>, « car lorsqu'il s'agit d'inhiber la fixation d'un ARN à une protéine, il faut être sûr que les observations faites sont pertinentes avant de passer à l'étape de criblage et à la recherche d'inhibiteur ». Ainsi, Roland Marquet souligne l'importance du travail de l'équipe de Jamal Tazi : « Les travaux avec la molécule ABX464 permettent de bloquer la biogenèse et le transport de l'ARN-VIH de manière très spécifique, contrairement à d'autres molécules qui affectent l'épissage de manière beaucoup plus large et qui se révèlent très toxiques. »

La protéine REV fait également l'objet d'études en thérapie génique<sup>4</sup> « et sa structure cristallographique, [lorsqu'elle sera connue], devrait permettre de faciliter la mise au point d'autres inhibiteurs », peut être les premiers des inhibiteurs d'interactions spécifiques ARN-protéine. ●

<sup>1</sup> Molécule légèrement différente de l'ADN, l'ARN sert également à la production des protéines. Le matériel génétique des virus peut être de l'ADN ou de l'ARN. Dans le cas du VIH, il s'agit de l'ARN.

<sup>2</sup> Campos et al, "Long lasting control of viral rebound with a new drug ABX464 targeting Rev - mediated viral RNA biogenesis", *Retrovirology*, 2015, 12:30.

<sup>3</sup> Smyth RP et al, "Mutational interference mapping experiment (MIME) for studying RNA structure and function", *Nature Methods*, 2015 Sep;12(9):866-72.

<sup>4</sup> Malim MH et al, "Stable expression of transdominant Rev protein in human T cells inhibits human immunodeficiency virus replication", *J Exp Med*, 1992;176:1197-201.

Nabel GJ et al, "A molecular genetic intervention for AIDS: Effects of a transdominant negative form of Rev", *Hum Gene Ther*, 1994 January;5:79-92.