

The background of the slide is a dark field filled with numerous spherical HIV particles. Each particle is covered in small, hair-like projections called glycoprotein spikes. The particles are rendered in shades of orange, red, and yellow, with some appearing more brightly lit than others, creating a sense of depth and movement. The overall effect is a dense, microscopic view of the virus.

VIH

Cycle de réplication viral

Le tutorat est gratuit et c'est la frappe. Toute reproduction ou vente est interdite

En 1981-1982 il y a une apparition des **pathologies opportunistes** chez des **patients immunodéprimés** tels que des pneumopathies pneumocystis carinii, sarcomes de Kaposi.

- Amas de *Pneumocystis carinii* (LBA)



-Sarcome de Kaposi :



prolifération vasculaire
angiomateuse
et fibroblastique

Et très vite, en regardant les études épidémiologiques, on se rend compte que, probablement, cette nouvelle pathologie est due à un **agent infectieux transmissible**.

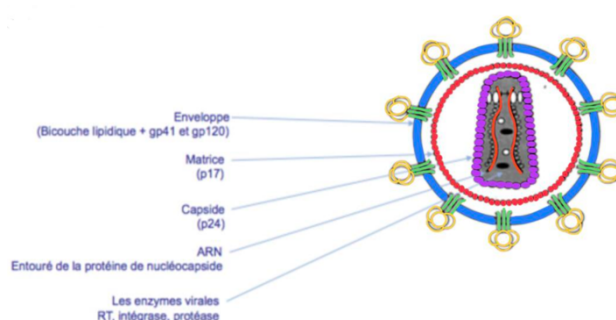
1983	A l'institut pasteur que l'équipe de Luc Montagnier qui va faire cette découverte, et c'est essentiellement Françoise Barré-Sinoussi (qui obtiendra le prix nobel de médecine) grâce à un ganglion d'un patient qui a ces pathologies opportunistes, donc beaucoup de polyadénopathie, et ils vont mettre en évidence un nouveau virus.	Ce virus est tout d'abord appelé LAV (pour Lymphadenopathy Associated Virus) qui, désormais, est appelé VIH (pour virus de l'immunodéficience humaine) en français, ou HIV en anglais.
1986	François Clavel, travaillant sous la direction de Françoise BRUN-VÉZINET à l'Institut Pasteur.	Il découvre un autre VIH qu'on va appeler VIH2 , celui-ci, et il est un petit peu différent, mais surtout il a une diffusion moins grande dans la population (son épidémiologie est plus limitée à l'Afrique de l'Ouest).

2) A QUOI RESSEMBLE CE PTN DE VIH ?

Ce virus possède une particularité car il fait partie de la famille des **RETROVIRIDAE+++** car il présente une **étape de rétrotranscription** dans son cycle (on va y revenir tkt).

C'est une particule qui est sphérique de 110 nm de diamètre avec de l'extérieur vers l'intérieur :

- Une **enveloppe** composée : d'une bicouche phospholipidique (morceau de membrane plasmique) dans laquelle sont enchâssées des glycoprotéines virales comme les tétramères de **GP41** et **GP120**
- La **matrice** : petite structure sous l'enveloppe, uniquement composée de protéines virales, la **protéine 17+++**
- La **capside virale** : faite de protéines **P24**, en forme de cône tronqué dans lequel on retrouve :
 - Le génome du virus à **ARN positif+++**, bien protégé par sa nucléocapside, composée de protéines qui protègent l'ARN et qui sont en **double exemplaire**
 - Des protéines à activité enzymatique qui sont : **la reverse transcriptase ou transcriptase inverse, l'intégrase et la protéase +++**



Ces 3 enzymes sont des cibles potentielles pour la **chimiothérapie antirétrovirale. +++**

II- Cycle du VIH par étape

Étape 1 : entrée du VIH dans la cellule cible (lymphocytes T CD4+, macrophages, cellules dendritiques)

La première étape du cycle de réplication du VIH correspond à **l'entrée du virus** dans une **cellule cible** puisqu'un virus **ne sait pas vivre sans une cellule ++**, il a besoin de rentrer dans cette dernière pour se répliquer

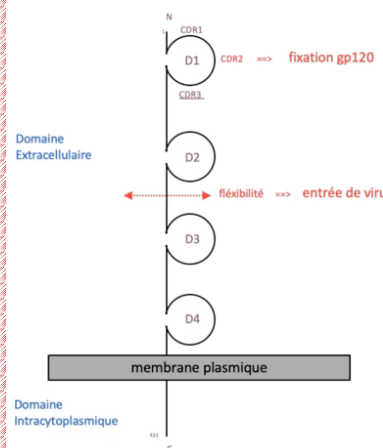
+++ L'étape 1 se fait en 2 temps +++

1. Liaison (ou attachement) aux récepteurs et corécepteurs cellulaires	2. Fusion
Cette étape est sous la dépendance d'interactions très fortes entre la gp120 virale et des protéines cellulaires	Entre l'enveloppe virale et la membrane plasmique.

Quelles protéines cellulaires sont impliquées dans la liaison ?

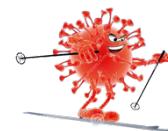
1- Le récepteur CD4

Protéine CD4 = Glycoprotéine transmembranaire (55kd)
(son rôle physiologique = fixation au CMH de classe II)



CD4 est une **protéine transmembranaire** retrouvée chez une sous population de lymphocytes T composée d'un **petit domaine intra cytoplasmique** et d'un **énorme domaine extracellulaire**.

En fait, la protéine CD4 ou récepteur CD4 est **physiologiquement impliquée dans l'immunité** (fixation du CMH de classe II). Le virus l'utilise comme une serrure (dont la clé = gp120) permettant d'accéder à la cellule cible.



2- Les co-récepteurs

→ Ce sont des **récepteurs des chimiokines** (cytokines chimotactiques)

→ Ils possèdent **7 domaines transmembranaires** (couplés aux protéines G)



	Types de corécepteurs	Ligands naturels ++
Alpha chimiokines	CXCR4	SDF-1
Beta chimiokines	CCR5	RANTES, MIP-1a, MIP-1b

Si la cellule ne présente pas, au moins le CD4, et une de ces deux protéines cellulaires, le virus est incapable de l'infecter. +++

La liaison est une étape clé et très spécifique dépendant d'interaction très fortes entre des protéines cellulaires, le virus est incapable de l'infecter.

ATTENTION +++++ : SI LA CELLULE NE PRESENTE PAS, AU MOINS LE CD4, ET UNE DE CES DEUX PROTEINES CELLULAIRES, LE VIRUS EST INCAPABLE DE L'INFECTER !!

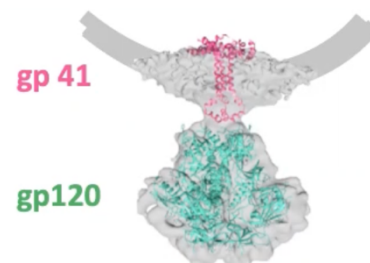
Quelles protéines virales interviennent dans l'étape d'entrée ?

La **gp120** (étape d'attachement) :

- Glycoprotéine de surface de l'enveloppe du VIH-1
- Très globulaire, replié sur elle-même, avec des régions très variables
- Protéine flexible, fortement glycosylée (50%)

La **gp41** (étape de fusion) :

- Glycoprotéine transmembranaire
- Repliée dans la gp120 qui masque cette protéine au système immunitaire

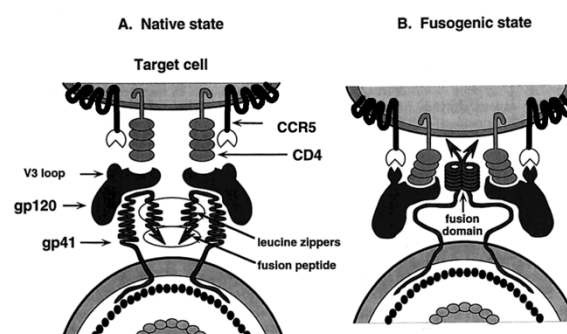


Mais comment se fait plus précisément cette entrée du VIH dans la cellule ?

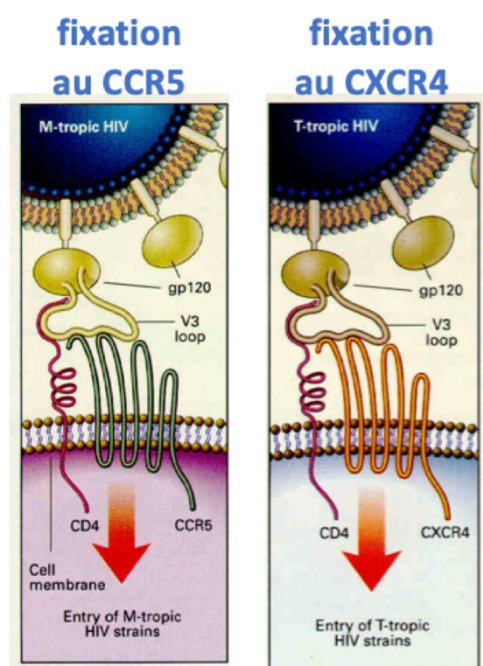
1. LIAISON :

➤ 1^{ère} interaction entre **gp120** et la protéine CD4 :

- ❖ **Gp120** se fixe au niveau du domaine **extracellulaire** de la protéine CD4 (le domaine Ig like D1= CDR2 sur le schéma du récepteur CD4 plus haut).
- ❖ Cela entraîne une **MODIFICATION CONFORMATIONNELLE +++++** de CD4, au niveau de sa région flexible (elle se plie). Gp 120 change également de conformation.



Ces changements conformationnels sont **INDISPENSABLES** à la liaison aux corécepteurs. +++++



➤ 2^{ème} interaction entre gp120 et les corécepteurs

- ❖ **Gp 120** se fixe sur la partie N-terminale d'un des corécepteurs (après s'être fixée à CD4 et avoir changé de conformation) : soit sur CCR5, soit sur CXCR4
- ❖ **Des MODIFICATION CONFORMATIONNELLES des 2 protéines permettent l'étape de fusion. +++**

Certains patients « long term non progressor » possèdent naturellement un taux de bêta-chimiokines circulant très élevé empêchant la fixation du virus sur le co-récepteur CCR5.

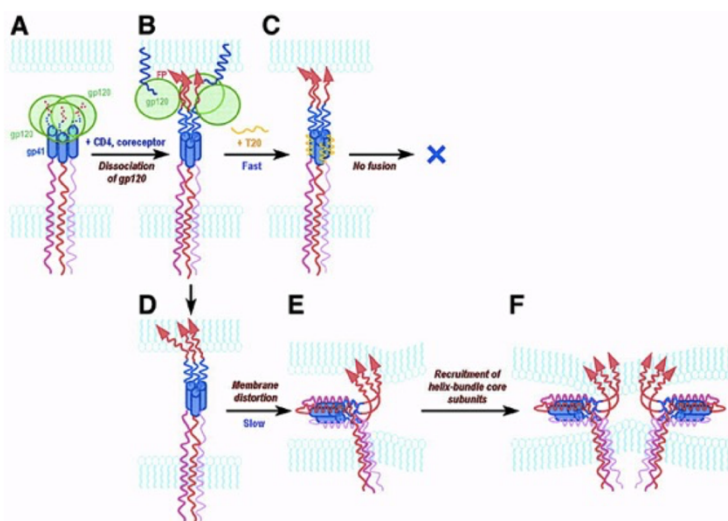
⚠ Chez ces patients, l'infection au VIH va donc évoluer plus doucement. ⚠

2. FUSION :

Après interaction de **gp120** et du corécepteur, on voit apparaître une protéine virale « cachée » à l'intérieur de celle-ci : **gp41** grâce à la **MODIFICATION CONFORMATIONNELLE de gp120.++**

La région fusiogène (peptide fusiogène) N-terminale de la **gp41** déclenche dans un 2ème temps la **fusion entre l'enveloppe virale et la membrane cellulaire** car :

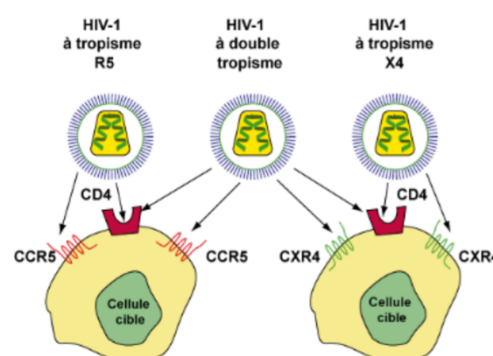
- Cette région s'ancre dans la membrane plasmique cellulaire (voir D dans la figure suivante) = transperce la membrane cellulaire (comme un harpon)
- Rapproche l'enveloppe du virus de la membrane cytoplasmique par **repliement de la gp41** sur elle-même. C'est ce qu'on appelle le **zipping ++**. (Ça fait un peu comme une ceinture éclair)
- Cela entraîne le **contact entre l'enveloppe virale et la membrane plasmique** puis, par un phénomène de **fusion-lyse**, la formation d'un **pore**.
- La capsid virale peut alors **entrer dans la cellule**.



On va s'intéresser aux conséquences physiopathologiques et à la notion de tropisme :

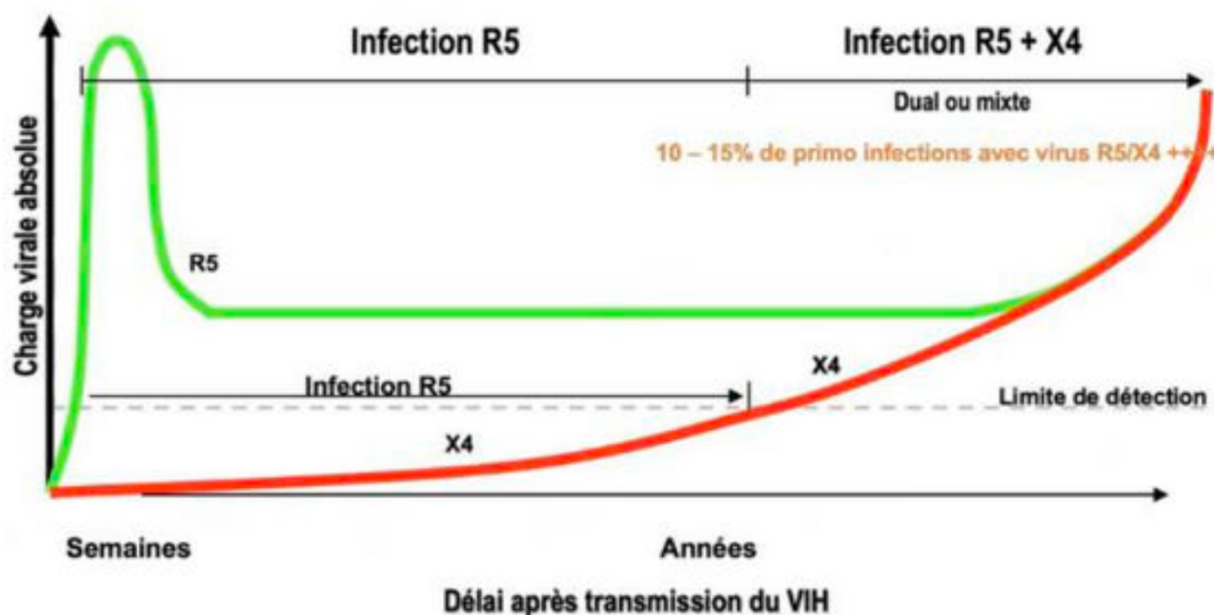
Les souches du virus vont cibler différents types cellulaires, on parle de **tropisme cellulaire**, définit par la voie d'entrée du virus.

Il y a ainsi des souches à tropisme :



R5 (macrophages, monocytes, cellules dendritiques)	X4 (lymphocytes T)	Double tropisme
Les protéines cellulaires permettant l'entrée du VIH sont les protéines CD4 et CCR5	Les protéines cellulaires permettant l'entrée du VIH sont les protéines CD4 et CXCR4	Les protéines cellulaires permettant l'entrée du VIH sont les protéines CD4 et CCR5 ou CXCR4

En général, les patients sont infectés par des souches à tropisme R5 au début de l'infection et au cours de l'évolution de la maladie, les virus à tropisme X4 vont apparaître et devenir majoritaires.



Les années passent et la charge virale R5 très importante en début d'infection, avant que la réponse immunitaire se mette en route. Les souches R5 perdurent (charge virale constante) mais petit à petit, elles vont être remplacées par des souches X4 ou continuer d'exister de manière concomitante.

Conséquences : définition des cellules infectables

Différentes catégories de cellules peuvent être infectées par le virus et **TOUTES expriment le CD4** à leur surface. ++++ (On se rappelle : **pas de CD4 → pas d'infection possible**)

Dans le **sang circulant**, sont infectés :

- ◇ Les **lymphocytes T CD4+**, en particulier les cellules T CD4+ mémoires. Ces derniers peuvent garder le virus en mémoire pendant très longtemps. Cela est dû au fait que le virus est capable de s'intégrer dans le génome de la cellule
- ◇ Les **monocytes circulants**, exprimant la molécule CD4 à un niveau moindre que les lymphocytes T CD4+

Dans les **tissus**, sont infectés :

- ◆ Les cellules du système **monocyte-macrophage**
- ◆ Les **cellules dendritiques**
- ◆ Les **lymphocytes T CD4+** présent dans les tissus

Ces cellules sont des **réservoirs de l'infection virale** (dans les ganglions, le tube digestif, ...)

Dans les follicules lymphoïdes (qui sont le principal organe/tissus cible de l'infection virale), les cellules folliculaires dendritiques, élément architectural essentiel de ces follicules, capturent les particules virales et les présentent aux cellules lymphoïdes.

L'entrée du VIH dans une cellule est un phénomène **nécessitant énormément de changements conformationnels**.

SI ON BLOQUE CES CHANGEMENTS, ON BLOQUE L'ENTREE DU VIRUS DANS LA CELLULE

Le tutorat est gratuit et c'est la frappe. Toute vente ou reproduction est interdite.

Après cette première étape de liaison et fusion :

- 1- Par **endocytose**, le virus **entre dans la cellule** et la **décapsidation** a lieu (=disparition de la capsid virale afin de rendre **l'ARN accessible+++**)
- 2- Puis la **rétrotranscription**

Étape 2 : rétrotranscription de l'ARN viral et formation du provirus

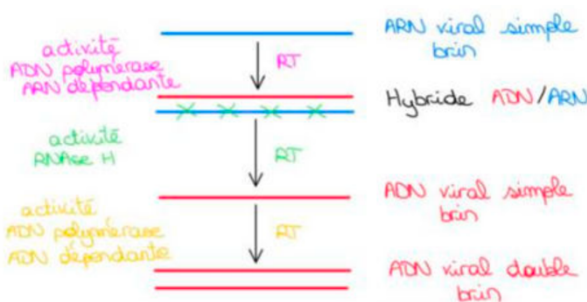
Seuls les rétrovirus sont capables de réaliser cette étape très particulière de **rétrotranscription**. ++ Ils synthétisent à partir d'**ARN**, de l'**ADN double brin**. Cette étape est **indispensable** pour que le virus continue d'exister dans la cellule.

Cette étape du cycle est réalisée par une enzyme virale : **la reverse transcriptase (RT)+++**

Les activités enzymatiques de la RT sont multiples :

- 1- **Synthèse** du premier brin d'ADN : **activité ADN-polymérase ARN dépendante**
- 2- **Hydrolyse** de la matrice ARN : **activité RNase H**
- 3- **Duplication** de cet ADN : **activité ADN-polymérase ADN-dépendante**

Rappel : la RNase H permet de dégrader une matrice ARN lorsqu'elle est hybridée à un brin d'ADN (cf biologie moléculaire)



Cinétique complexe pour obtenir un provirus :

- A- On part d'un premier brin, synthétisé à partir de l'ARN viral
- B- On le déplace à l'autre extrémité du brin d'ARN et on synthétise le premier brin d'ADN viral
- C- On va pouvoir continuer dans l'autre sens en synthétisant le deuxième brin d'ADN viral

On récapitule :

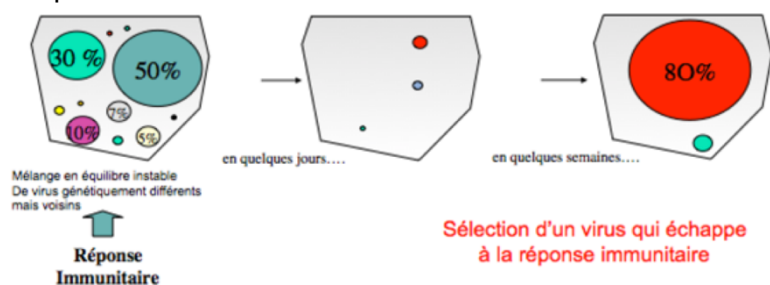
D'un **ARN viral**, on est passé à un **ADN double brin** appelé **PROVIRUS**.

En plus d'avoir un « recopiage » du génome viral, il y a addition de deux régions essentielles : les **LTR** (Long Terminal Repeat), permettant l'étape d'intégration du provirus dans le génome de la cellule. Ainsi, lors de cette synthèse de l'ADN proviral, la RT assure aussi des opérations de transfert de brin d'ADN, notamment pour produire les deux LTR présentes aux extrémités du Provirus.

Conséquences physiopathologiques liées à cette étape

La **reverse transcriptase** est une enzyme virale qui n'est **pas fidèle+++**, elle **n'a pas de mécanisme de correction**. Elle introduit donc des **erreurs lors de la phase de « recopiage » +++** (1 mutation toutes les 1000 ou 10000 bases synthétisées). De plus, s'attacher et se détacher de l'ADN et de l'ARN viral lors des opérations de transfert de brin entraîne aussi un **risque d'erreur par dérapage** (frameshift) à chaque ré-attachement. Il en résulte que la population virale chez un patient infecté est un **mélange en équilibre instable de virus génétiquement différent mais voisins**. Comme beaucoup de nouveaux virus sont produits chaque jour cela provoque une **grande diversité** : on parle de **QUASI-ESPECE +++**, d'où vont émerger les variants antigéniques et les mutants résistants aux antiviraux (la population virale peut échapper aux thérapeutiques antirétrovirales).

Explication du schéma :



Le patient est **infecté**, non pas par un seul virus, mais **par pleins de virus différents+++**, en proportions variables (certains sont majoritaires par rapport à d'autres)

La réponse immunitaire se déclenche (en réponse à l'infection) et en quelques jours, la réplication virale est en partie contrôlée.

Si certains virus ne sont pas éliminés, au bout de quelques semaines, on peut voir apparaître **un virus qui échappe totalement au système immunitaire** (et la c'est pas top...)

Et c'est cette situation que l'on souhaite contrer avec la mise en place d'une **thérapeutique**.

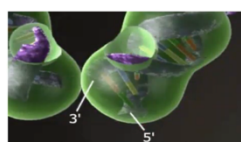
La réponse immune est une première étape importante mais l'ajout de médicaments permet d'éviter cette situation d'échappement au système immunitaire et de contrôler complètement la réplication virale.

Étape 3 : Intégration du provirus VIH

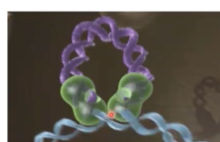
Après passage du pore nucléaire le **provirus (ADN double brin viral néosynthétisé) va pouvoir s'intégrer au génome cellulaire**. Cette étape est sous la dépendance d'une enzyme virale : **l'intégrase VIH**.

Cette dernière va :

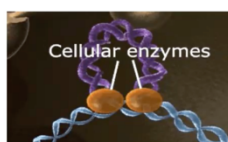
- 1- **Cliver** les extrémités du **provirus** (les extrémités des LTR)
- 2- **Se fixer** sur le **provirus** et **migrer** avec lui **à travers le pore nucléaire**
- 3- **Cliver** aléatoirement **l'ADN cellulaire**
- 4- **Maintenir** le **provirus** au contact de **l'ADN cellulaire**



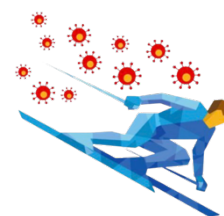
L'intégrase virale clive les extrémités du provirus VIH



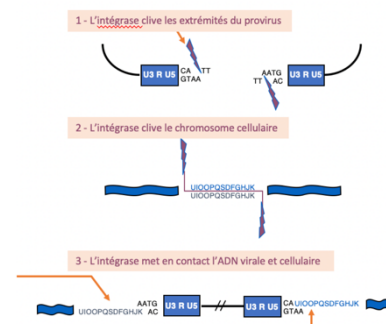
L'intégrase virale clive l'ADN cellulaire et met en contact les extrémités d'ADN VIH et cellulaire



Les enzymes cellulaires réparent l'ADN



Les **enzymes cellulaires** vont alors **réparer l'ADN** (elles viennent combler les zones d'ADN simple brin). Le **provirus** est à partir de là, **intégré dans le génome cellulaire et pourra être maturé comme tout gène cellulaire** (transcription, traduction).



Étape 4 : Transcription et traduction des gènes viraux

L'ADN viral intégré est ensuite **transcrit et traduit** grâce à la **machinerie cellulaire** (comme si c'était un gène cellulaire classique). **Il n'y a donc pas de thérapeutiques pour cette étape+++**

Transcription

L'ADN viral étant intégré dans l'ADN cellulaire cette étape de transcription va être réalisée grâce aux ARN polymérase cellulaire : **le virus "profite" de toute la machinerie cellulaire +++.**

Les ARNm viraux ont un seul site de déclenchement (LTR5') et de fin de la transcription (LTR3') mais **l'épissage (découpages et réassemblages) permet d'obtenir de nombreux ARNm codant pour différentes protéines virales.**

Traduction et transport des protéines de structure

Il existe **2 voies distinctes de synthèse des précurseurs polypeptidiques** (ou polyprotéines) Gag, Gag-Pol et Env

→ Polyprotéine env :

Elle est traduite et routée **comme les autres protéines cellulaires** dans les différents compartiments cellulaires (RE et Golgi). Elle y subit les modifications post traductionnelles comme les autres protéines cellulaires (glycosylation et clivage par une protéase cellulaire pour obtenir gp120 et gp41). Les protéines matures gp120 et gp41 (issues de la traduction de la portion env : cf schéma), se localisent dans le bourgeon en cours de formation.

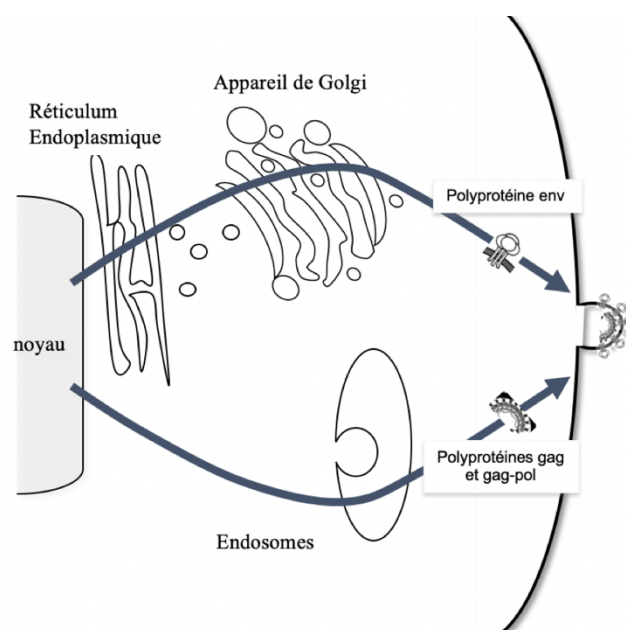
→ Polyprotéines gag et gag-pol :

Elles sont **traduites dans le cytoplasme**. Elles sont routées par des **protéines cellulaires cytoplasmiques** (= protéines endosomales d'adressage) **sans passer dans les différents compartiments cellulaires** (RE et Golgi)

Les polyprotéines immatures (toutes les protéines autres que les protéines d'enveloppe), couplées au génome viral, se localisent dans le bourgeon en cours de formation

➤ **La maturation de ces polyprotéines par la protéase virale aura lieu après l'étape de bourgeonnement**

Ainsi, nous avons créé un **nouveau virion immature**.



Étape 5 : Maturation du virion et clivage des précurseurs polypeptidiques gag et gag-pol et assemblage

Reprenons : après cette étape de transcription et traduction, les protéines virales vont être maturées par la protéase. Il y aura également création des structures internes du virus.

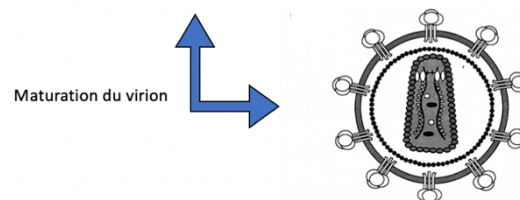
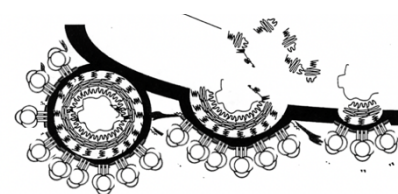
© Clivage

La **protéase virale**, active sous forme **dimérique**, est absolument **essentielle pour la maturation du virion**. Elle **clive les polyprotéines gag et gag-pol**.

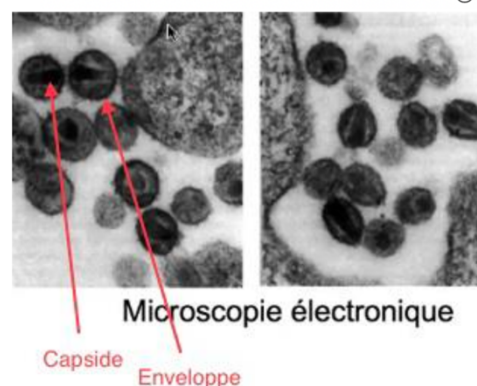
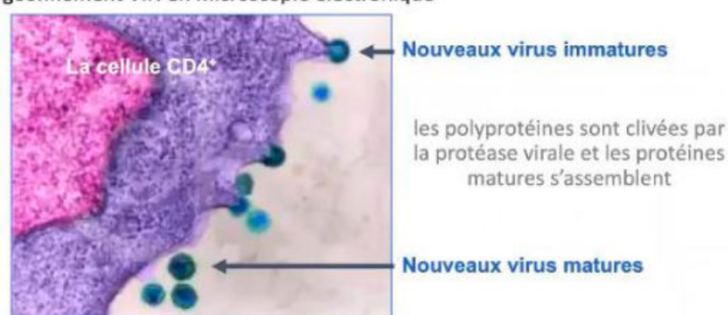
Le clivage des précurseurs est nécessaire à **l'accomplissement du cycle viral et à la synthèse des différentes protéines virales matures** (de structure et à activité enzymatique) : gp41, gp120, p24, p17, p9 RT, IN, PR. Cette maturation protéolytique aboutit après l'étape de bourgeonnement. Si cette étape de clivage n'est pas effectuée, les nouveaux virions formés ne seront jamais infectieux.

Après le clivage des polyprotéines immatures, les **protéines de structure s'assemblent** :

- ⊕ Les protéines p24 vont former la capsid virale (les protéines p24 s'auto-assemblent d'abord en capsomère)
- ⊕ Les protéines p17 vont former la matrice virale
- ⊕ Les protéines p9 sont d'autres protéines qui vont former la nucléocapsid virale (nucléocapsid = capsid + acides nucléiques)



Bourgeonnement VIH en microscopie électronique

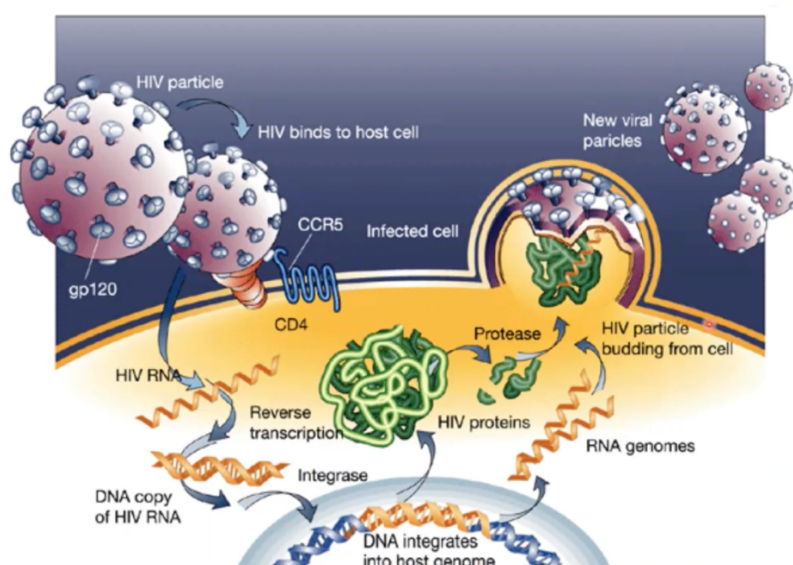


- On ne distingue pas les polyprotéines à l'intérieur des bourgeons en formation mais l'enveloppe est bien visible
 - On distingue clairement l'enveloppe et la capsid des virions matures
- Les virus matures sont **INFECTIEUX**.

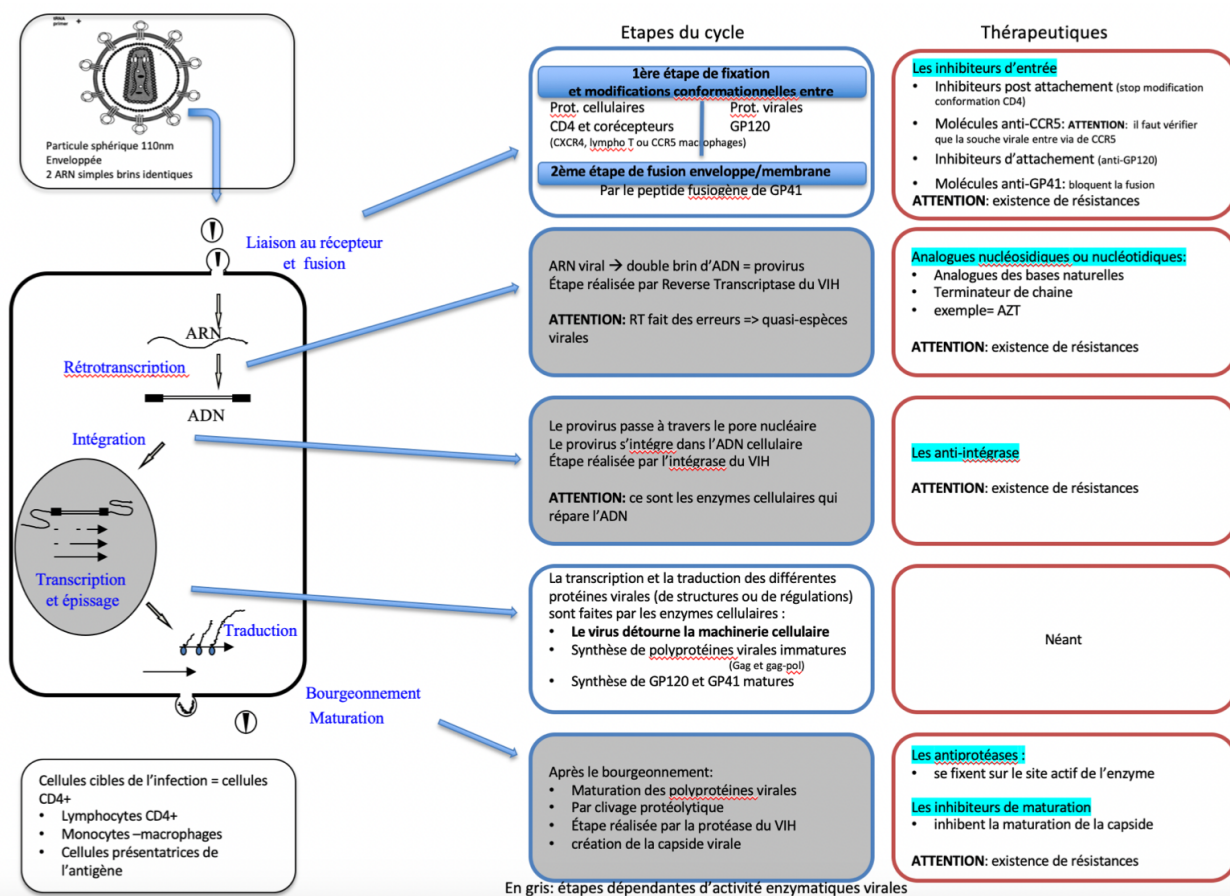
Juste à côté je vous mets un petit aperçu, pour imager, du virus en Microscopie électronique sur lequel on distingue bien la capsid et l'enveloppe d'un virus ici mature.

🔄 RESUME DU CYCLE REPLICATIF DU VIH 🔄

- Production d'une grande quantité de virion
- Mais l'étape de rétrotranscription a introduit des mutations
- Les virus produits sont différents du virus qui a infecté la cellule



GROS RECAP DE LA PROF



LES DEDIS +++

Dédi à toute ma famille, ces boss qui ont toujours cru en moi

Dédi aux darons qui ont été au top

Dédi spéciale à Victorianus aka Vicks sur le forum, qui vous a fait croire qu'on était cousin alors qu'on est jumeau

Dédi à Ethan mon cousin qui va forcément perfect la microbio

Dédi à Gab, mon meilleur pote qui va majorer tout ça

Dédi à Gum Gum Bullet en force

Dédi à ma copine, la crack qu'elle pense être, qui m'a soutenu à bloc toute l'année

Dédi à tous mes fillot(e)s Nabil, Candice, Lilou, Ambre et Jihane à qui je souhaite une grosse réussite

Dédi à Corentin, Julien, Elia et Emma à qui j'ai promis une dédi en face de la boîte à la PP1, grosse force à vous

Dédi à Lou ma co-tut et à notre super miniature

Dédi à Victoxine essaye de s'improviser jumelle avec la mienne

Dédi à Clement digne descendant du créateur de Doritos

Dédi à Lison parce qu'elle se cuisine toujours des bons plats

Dédi à Cytit' parce que j'ai envie

Dédi à Ophélie qui mendiant une dedi depuis 3 mois (je rigole pas à la limite du harcèlement)

Dédi à Marielouxation et Molinaribosome qui ont découvert que je travaillais chez tuteur de microbio

Dédi à Meyli la vieille d'histo qui m'a vite fait aider à faire cette fiche

Dédi à vous parce que vous allez dead ça ++++