

La N-glycosylation du VIH : du modèle expérimental à l'application thérapeutique

La gp160, précurseur des glycoprotéines d'enveloppe du virus de l'immunodéficience humaine (VIH), est clivée en gp120 et gp41. La gp120 permet la fixation du virus aux cellules CD4⁺. La gp41 induit alors la fusion entre les membranes virale et cellulaire. Le rôle fonctionnel de leurs glycanes — représentant 50 % de la masse moléculaire — a été récemment éclairci. Pendant la biosynthèse, les glycanes sont indispensables à l'acquisition de la conformation fonctionnelle de la gp120 et de la gp41 : certains inhibiteurs de la glycosylation empêchent la liaison de la gp120 à CD4⁺ et la mutation des quelques sites de glycosylation de la gp41 altère le clivage de la gp160 et supprime l'activité fusogène de la gp41. Après la biosynthèse, en revanche, les glycanes ne sont pas impliqués de façon majeure dans l'activité biologique et dans la conformation des protéines d'enveloppe : le VIH déglycosylé est capable de se lier aux cellules CD4⁺ et de les infecter. Ces résultats ont conduit à des essais thérapeutiques d'inhibiteurs de la glycosylation et à envisager des vaccins utilisant des dérivés déglycosylés des protéines d'enveloppe.

Emmanuel Fenouillet

Les glycoprotéines d'enveloppe (*env*) du virus de l'immunodéficience humaine (VIH) sont très fortement glycosylées. Elles constituent l'une des cibles majeures des stratégies prophylactiques (vaccins) et thérapeutiques pour lutter contre l'infection par le VIH. De par ses influences vraisemblables sur leurs fonctions et sur leur structure, la N-glycosylation de *env* a fait l'objet d'études très approfondies depuis environ cinq ans. L'objet de cet arti-

cle est de résumer ce que l'on sait du rôle fonctionnel des glycanes des glycoprotéines du VIH et de discuter des applications possibles.

La N-glycosylation : biosynthèse et rôles

La N-glycosylation est une modification post-traductionnelle omniprésente chez les eucaryotes. Dans le réticulum endoplasmique, il y a greffe d'un motif précurseur (*figure 1, partie 1*) oligomannosidique composé en majorité

ADRESSE ET TIRÉS À PART

E. Fenouillet : chargé de recherche au Cnrs. Cnrs URA 1463, 83, boulevard de l'Hôpital, 75651 Paris Cedex 13, France.

m/s n° 8-9 vol. 9, août-septembre 93

RÉFÉRENCES

1. Kornfeld R, Kornfeld S. Assembly of asparagine-linked oligosaccharides. *Ann Rev Biochem* 1985 ; 5 : 631-64.
2. Alexander S, Elder JH. Carbohydrate dramatically influences immune reactivity of antisera to viral glycoprotein antigens. *Science* 1984 ; 226 : 1328-30.
3. Olden K, Bernard BA, Humphries MJ, et al. Function of glycoprotein glycans. *Trends Biochem Sci* 1985 ; 2 : 78-81.
4. Le SIDA. *Pour La Science*. Paris : Belin, 1989.
5. Sattentau QH, Weiss R. The CD4 antigen : physiological ligand and HIV receptor. *Cell* 1988 ; 52 : 631-8.
6. Freed E, Risser R. The role of the HIV envelope glycoprotein in cell fusion and the pathogenesis of AIDS. *Bull Inst Pasteur* 1990 ; 88 : 73-110.
7. Moore JP, Nara P. The role of the V3 loop in HIV infection. *AIDS* 1992 ; 5 (suppl 2) : S21-33.
8. Desrosiers RC, Tiollais P, Sonigo P. Sequence of simian immunodeficiency virus from macaque and its relationship to other human and simian immunodeficiency retroviruses. *Nature* 1987 ; 328 : 543-7.
9. Anderson O, Sorensen AM, Svehag S, Fenouillet E. Conglutinin binds the HIV-1 envelope glycoprotein gp160 and inhibits its interaction with cell membrane CD4. *Scand J Immunol* 1991 ; 33 : 81-8.
10. Lifson J, Coutre S, Huang E, Engleman E. Role of envelope glycoprotein carbohydrate in human immunodeficiency virus (HIV) infectivity and virus-induced cell fusion. *J Exp Med* 1986 ; 64 : 2101-20.
11. Erzekowitz AB, Kulhman M, Groopman J, Byrn R. A human mannose-binding protein inhibits *in vitro* infection by the human immunodeficiency virus. *J Exp Med* 1989 ; 169 : 185-96.
12. Gruters RA, Neefjes JJ, Tersmette M, et al. Interference with HIV-induced syncytium formation and viral infectivity by inhibitors of trimming glucosidase. *Nature* 1987 ; 330 : 74-7.
13. Elbein AD. Inhibitors of the biosynthesis and processing of N-linked oligosaccharide chains. *Ann Rev Biochem* 1987 ; 56 : 497-534.
14. Fenouillet E, Gluckman JC. Effect of a glucosidase inhibitor on the bioactivity and immunoreactivity of human immunodeficiency virus type 1 envelope glycoprotein. *J Gen Virol* 1991 ; 72 : 1919-26.
15. Jones I, Jacob GS. Anti-HIV drug mechanism. *Nature* 1991 ; 352 : 198.
16. Fenouillet E, Jones I, Powell B, Schmitt D, Kiény MP, Gluckman JC. Functional role of the glycan cluster of human immunodeficiency virus type-1 transmembrane glycoprotein (gp41) ectodomain. *J Virol* 1993 ; 67 : 150-60.
17. Morikawa Y, Moore JP, Fenouillet E, Jones IM. Complementation of human immunodeficiency virus glycoprotein mutations in *trans*. *J Gen Virol* 1992 ; 73 : 1907-13.

de mannoses sur certaines séquences Asn-X-Ser ou Asn-X-Thr de la future glycoprotéine. Après « élagage » des glucoses et de certains mannoses, le motif glycanique oligomannosidique (figure 1, partie 2) peut ensuite être modifié par réaction enzymatique en motifs dits complexes (figure 1, partie 3) par l'addition de divers monosaccharides dans l'appareil de Golgi (pour revue, voir [1]). Les acquis fondamentaux indiquent que la glycosylation est un méca-

nisme contrôlé en particulier par la conformation protéique. On sait aussi que la séquence Asn-X-Ser (ou -Thr) est une information nécessaire mais non suffisante pour induire la glycosylation : l'environnement cellulaire et notamment les stimuli hormonaux modulent ainsi la qualité des structures glycaniques synthétisées. Ce mécanisme n'est donc ni aléatoire ni figé. Les structures glycaniques ont des fonctions générales, non spécifiques

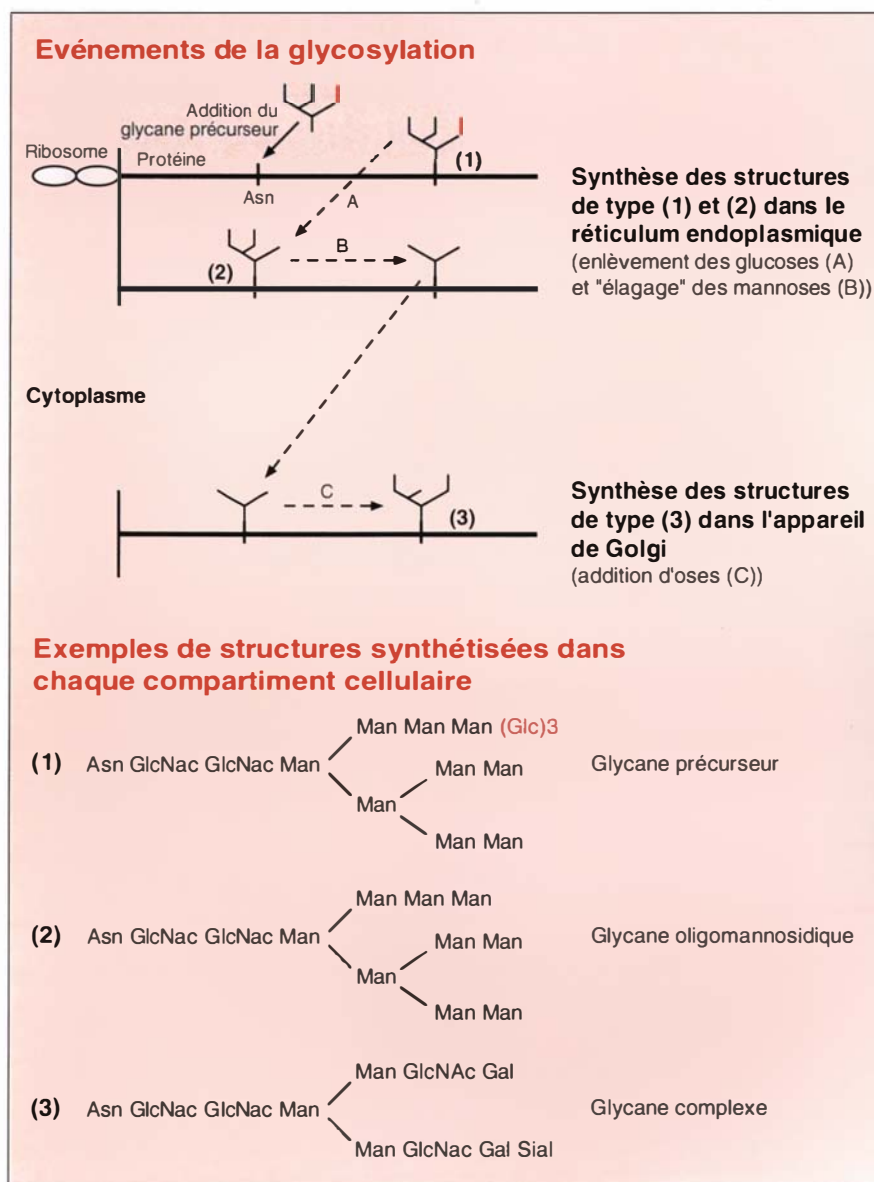
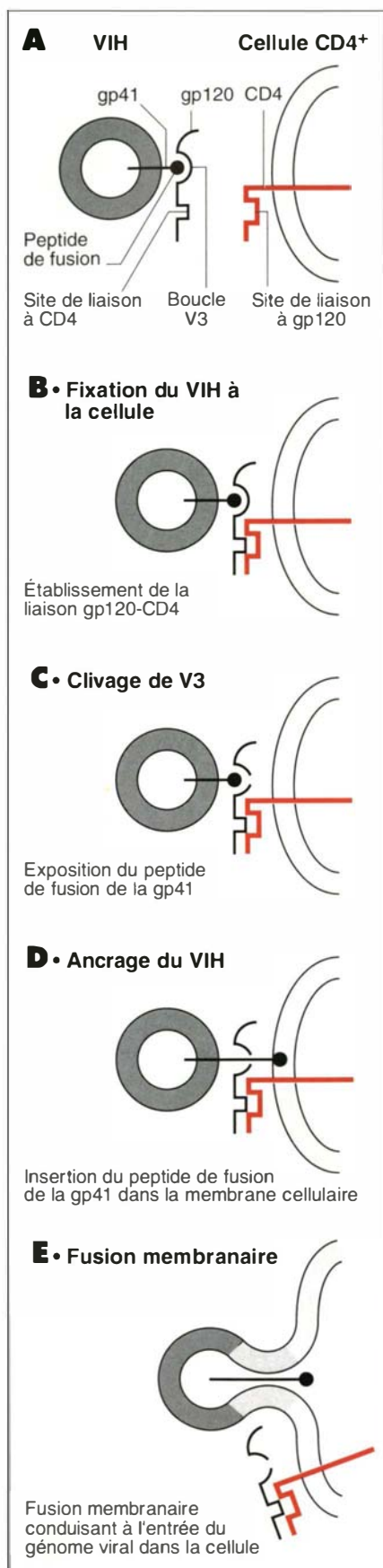


Figure 1. **Schématisation des événements de la glycosylation et des différents types de glycanes synthétisés (1)(2)(3)** (GlcNac : N-acétyl glucosamine ; Man : mannose ; Gal : galactose ; Sial : acide N-acétyl neuraminique) ; A : étape bloquée par les inhibiteurs des glucosidases (désoxynojirimycine, DNJ) ; B : étape bloquée par les inhibiteurs des mannosidases.



d'une glycoprotéine particulière (rôles dans l'antigénicité, la solubilité, la résistance à la protéolyse ou à la dénaturation thermique) [2, 3]. Elles ont aussi des fonctions spécifiques différant selon les molécules : elles peuvent moduler l'activité biologique d'une hormone ou d'un récepteur, l'aiguillage intracellulaire d'une molécule ou l'élimination par l'organisme d'éléments et de molécules indésirables. La glycosylation des glycoprotéines joue ainsi un rôle clé dans divers processus biologiques.

La glycosylation est donc un des meilleurs moyens de contrôler avec précision les caractéristiques d'une molécule en s'affranchissant de la rigidité relative du code génétique. C'est une façon « économique » de bénéficier d'une diversité nécessaire que le génome seul ne peut apporter. Enfin, d'un point de vue finaliste, il est évident que si l'évolution a conservé et même favorisé l'hétérogénéité des structures glycaniques et l'équipement enzymatique sophistiqué de la glycosylation [1], cela doit répondre à une nécessité.

Les glycoprotéines d'enveloppe du VIH

Le VIH est un rétrovirus. L'infection d'une cellule est donc suivie de la transcription inverse du génome viral, puis par son intégration dans l'ADN cellulaire [4]. Les gènes *gag*, *pol* et *env* (codant respectivement pour les protéines de la capsid, les enzymes virales et les glycoprotéines d'enveloppe) peuvent alors être transcrits, et les virions produits par la cellule vont rejoindre le milieu extracellulaire et infecter de nouvelles cellules.

La gp160, précurseur des glycoprotéines d'enveloppe, est clivée par une protéase cellulaire dans l'appareil de Golgi en gp120 et en gp41, restant par la suite associées de façon non covalente. Après transport vers la membrane cellulaire et bourgeonnement des virions, la gp120 extramembranaire est ainsi liée à la surface du

virus par l'intermédiaire de la gp41 transmembranaire (figure 2A). La gp120 est responsable du tropisme du VIH pour les cellules CD4⁺ et permet la liaison de la particule virale à la cellule cible [5, 6]. L'extrémité N-terminale de la gp41, une séquence d'acides aminés hydrophobes appelée peptide de fusion, va alors ancrer le virus dans la membrane cellulaire et induire la fusion des membranes virale et cellulaire (figure 2C,D,E). Cela conduira à l'entrée du virus dans la cellule. Dans une telle cascade d'événements, le clivage de la gp120 au niveau de sa région V3 joue peut-être un rôle important [7] : entre autres, il pourrait permettre au peptide de fusion d'être démasqué ou induire des changements conformationnels au sein du complexe gp120-CD4 de telle sorte que la fusion membranaire pourrait avoir lieu. Enfin, il a été envisagé que la boucle V3 pouvait être partie prenante de manière transitoire au cours des événements conduisant à la liaison du VIH aux cellules CD4⁺.

L'étude de la séquence de *env* indique l'existence d'une trentaine de sites de N-glycosylation dont les positions sont généralement conservées entre VIH-1, VIH-2 et l'équivalent simien SIV [8]. Ces sites sont tous glycosylés et, en conséquence, les glycanes représentent 50 % du poids moléculaire de la gp160.

Il y a cinq ans, les données sur les fonctions de la N-glycosylation de *env* étaient presque inexistantes. On supposait alors qu'elle pouvait avoir une influence dans la formation des particules virales infectieuses, dans l'interaction avec le récepteur cellulaire CD4 et dans la fusion entre la membrane virale et celle de la cellule cible. Outre ces rôles fonctionnels, on pensait que les sucres pouvaient aussi permettre au virus de résister aux protéases et au système immunitaire de l'hôte : en couvrant la particule virale d'un « masque » glucidique, les glycanes peuvent modifier la réponse immunitaire ou permettre l'interaction avec des lectines sériques [9-11]. Néanmoins, alors que le rôle des glycanes dans l'antigénicité et l'immunogénicité des produits de *env* n'a commencé à être étudié que récemment et que quelques résultats fragmentaires indiquent que ce

Figure 2. Schématisation de certains événements moléculaires conduisant à l'infection par VIH d'une cellule CD4⁺ (selon des modèles généralement admis).

RÉFÉRENCES

18. Fenouillet E, Gluckman JC. Immunological analysis of human immunodeficiency virus type 1 envelope glycoprotein proteolytic cleavage. *Virology* 1992 ; 187 : 825-8.
19. McCune J, Rabin LB, Feinberg MB, et al. Endoproteolytic cleavage of gp160 is required for the activation of human immunodeficiency virus. *Cell* 1989 ; 53 : 55-67.
20. Pal R, Hoke GM, Sarngadharan MJ. Role of oligosaccharides in the processing and maturation of envelope glycoproteins of human immunodeficiency virus type 1. *Proc Natl Acad Sci USA* 1985 ; 86 : 3384-8.
21. Dederà D, Gu R, Ratner L. Role of asparagine-linked glycosylation in human immunodeficiency virus type 1 transmembrane envelope function. *Virology* 1992 ; 187 : 377-82.
22. Bolmsted A, Hemming A, Flodby P, et al. Effects of mutations in glycosylation sites and disulphide bonds on processing, CD4-binding and fusion activity of human immunodeficiency virus envelope glycoproteins. *J Gen Virol* 1991 ; 72 : 1269-77.
23. Dirckx L, Lindemann R, Ette R, Manzoni C, Moritz D, Mous J. Mutation of conserved N-glycosylation around the CD4-binding site of human immunodeficiency virus type 1 gp120 affects viral infectivity. *Virus Res* 1990 ; 18 : 9-20.
24. Morikawa Y, Moore JPM, Wilkinson AJ, Jones IM. Reduction in CD4 binding affinity associated with removal of a single glycosylation site in the external glycoprotein of HIV-2. *Virology* 1991 ; 180 : 853-6.
25. Fenouillet E, Clerget-Raslain B, Gluckman JC, Guetard D, Montagnier L, Bahraoui E. Role of N-linked glycans in the interaction between the envelope glycoprotein of human immunodeficiency virus and its CD4 cellular receptor. *J Exp Med* 1989 ; 169 : 807-22.
26. Geyer H, Holsbach C, Hunsmann G, Schneider J. Carbohydrates of human immunodeficiency virus. *J Biol Chem* 1988 ; 263 : 11760-7.
27. Fenouillet E, Gluckman JC, Bahraoui E. Role of N-linked glycans of envelope glycoproteins in infectivity of human immunodeficiency virus type 1. *J Virol* 1990 ; 64 : 2841-8.
28. Matthews TJ, Weinhold KJ, Lyerly HK, Langlois AJ, Wigzel H, Bolognesi D. Interaction between the human T-cell lymphotropic virus type IIIB envelope glycoprotein gp120 and the surface antigen CD4 : role of carbohydrate in binding and cell fusion. *Proc Natl Acad Sci USA* 1987 ; 84 : 5424-8.
29. Ratner L. Glucosidase inhibitors for treatment of HIV-1 infection. *AIDS Res Hum Retrovir* 1992 ; 8 : 65-73.
30. Jacob GS, Scudder P, Butters TD, Jones I, Tiemer DC. Aminosugar attenuation of HIV infection. In : Chu CK, Cutler HG, eds. *Natural Products as Antiviral Agents*. New York : Plenum Press, 1992.

« capitonnage » glucidique module liaisons et biosynthèse des anticorps anti-*env*, l'influence de la N-glycosylation sur l'activité biologique de la gp120 et de la gp41 est définitivement éclaircie grâce aux nombreuses études menées depuis cinq ans.

Fonctions des glycanes de la gp120 au cours de la biosynthèse

En 1987, Gruters *et al.* [12] ont montré que la propagation du VIH dans des cultures cellulaires était inhibée par l'utilisation d'inhibiteurs des premières étapes de la glycosylation (figure 1) [13] : ces inhibiteurs anihilent l'action des glucosidases, c'est-à-dire le clivage des glucoses du motif glycanique précurseur. Les étapes postérieures de la glycosylation, à savoir la synthèse de motifs oligomannosidiques « normaux » ainsi que celle de motifs complexes ne peuvent alors avoir lieu. Mais ce travail « pionnier » n'avait pu indiquer quelles étaient les cibles de ces inhibiteurs : ils pouvaient en effet affecter la glycosylation — et donc les fonctions — de certaines glycoprotéines cellulaires ainsi que celles des glycoprotéines de l'enveloppe virale.

Il a été montré depuis que les glycoprotéines virales en étaient sans doute essentiellement la cible. En effet, la glycosylation correcte de la gp120 est indispensable — au cours de la biosynthèse — à l'acquisition de sa structure tridimensionnelle fonctionnelle : la gp120 recombinante synthétisée par des cellules de mammifères en présence d'inhibiteurs des glucosidases (1-désoxynojirimycine) présente des motifs oligomannosidiques glycosylés. Alors que ni la viabilité des cellules traitées ni la synthèse et le transport des molécules recombinantes ne sont perturbés par l'inhibiteur, la glycosylation anormale de la gp120 abolit sa liaison au récepteur CD4 [14]. Elle diminue en outre l'affinité d'anticorps monoclonaux dirigés contre la région V3 de la gp120 [14, 15], une région qui, comme on l'a vu, joue sans doute un rôle clé dans le mécanisme de fusion membranaire [7] ; de tels changements d'antigénicité sont la preuve de bouleversements de la conformation de *env*. La synergie de ces deux phé-

nomènes explique sans doute l'effondrement du pouvoir infectieux observé en présence de cet antibiotique [12].

Enfin, il est intéressant de noter que les inhibiteurs des mannosidases (figure 1) n'inhibent pas l'infectivité virale [12] : cela indique que les motifs de type complexe synthétisés dans l'appareil de Golgi (notamment les motifs sialylés) ne jouent sans doute pas de rôle dans l'acquisition de la structure tridimensionnelle fonctionnelle de *env*. L'induction par la glycosylation de cette structure fonctionnelle se fait donc très certainement par les motifs oligomannosidiques dans le réticulum endoplasmique, là où a lieu aussi la formation des ponts disulfures de la gp160.

Fonctions des glycanes de la gp41 au cours de la biosynthèse

Les trois ou quatre glycanes présents sur la gp41 [8] sont aussi une cible potentielle des inhibiteurs de la glycosylation. Leur fonction au cours des modifications post-traductionnelles a été étudiée par mutagenèse dirigée. Après mutation de l'ensemble de ses sites de glycosylation, l'immunoréactivité de la gp41 reste intacte [16] alors que la liaison à la gp160 d'anticorps monoclonaux reconnaissant les extrémités N- et C- terminales de la gp120 est fortement augmentée ; or, ces régions dont l'immunoréactivité est perturbée se trouvent 100 et 600 acides aminés en amont des sites mutés ! Cela conforte une observation récente selon laquelle des parties très éloignées de la gp160 interagissent entre elles pour induire la structure fonctionnelle [17]. Ces modifications conformationnelles vont de pair avec une sévère altération du clivage du précurseur gp160. Il est à noter qu'une réduction du clivage de la gp160 [18], condition préalable à l'obtention de glycoprotéines de *env* bioactives [19], est aussi causée par le caractère anormal de la glycosylation de la gp160 induite par la désoxynojirimycine [20]. Enfin, la gp41 non glycosylée au cours de la biosynthèse est totalement incapable d'induire la fusion entre les membranes virale et cellulaire.

Alors que la mutation de l'ensemble

Tableau I

INFLUENCE D'ANOMALIES DE LA GLYCOSYLATION DE LA GP120 OU DE LA GP41, PENDANT OU APRÈS LEUR BIOSYNTHÈSE, SUR LES FONCTIONS ET SUR L'IMMUNORÉACTIVITÉ DE ENV

	Pendant la biosynthèse, anormalité de la glycosylation de la gp120 gp41		Après la biosynthèse, anormalité de la glycosylation de la gp120 gp41	
Fonctions de env	+	+	+	+
Immunoréactivité de env	+	+	+	+

+++ : influence forte ; +/- : influence faible ; - : influence inexistante.

des sites de glycosylation de la gp41 provoque la perte des fonctions de env, les mutations ponctuelles de chacun des sites sont sans effet majeur [21]. Cela s'explique sans doute par le fait que les glycanes restants compensent l'absence causée par les sites voisins manquants. Un tel phénomène de complémentarité entre les sites glycaniques est aussi mis en évidence pour la gp120 : alors que les mutations ponctuelles sont généralement sans conséquence, les mutations de groupe de sites glycaniques provoquent une perte majeure des fonctions de la gp120 [22-24]. Ainsi, les glycanes de la gp120 et de la gp41 sont nécessaires à l'acquisition de la conformation fonctionnelle des produits de env.

Fonctions des glycanes de la gp120 et de la gp41 après la biosynthèse

Le rôle de la glycosylation des glycoprotéines virales mûres, après leur biosynthèse, dans le pouvoir infectant du VIH a aussi été étudié. Tout d'abord, on constate avec surprise que, malgré l'hétérogénéité bien connue des structures glycaniques, la glycosylation des gp120 recombinante et virale est qualitativement similaire : environ 50 % des motifs glycaniques sont oligomannosidiques et 50 % sont de type complexe [25-27]. Cette composition semble donc bizarrement indépendante de l'origine cellulaire de la molécule. Curieusement, vu (1) le grand nombre de glycanes portés par la gp160 ; (2) vu les conclusions précédentes et vu (3) les

multiples interférences existant entre les différentes régions de la gp160, on peut déglycosyler totalement les glycoprotéines virale et recombinante par la N-glycanase sans les dénaturer au préalable [25] : les glycanes sont donc accessibles à la surface de ces protéines. Même si sa déglycosylation fragilise sa structure, puisque la stabilité en présence d'agents dénaturants est compromise [28], l'absence de glycanes affecte très peu l'aptitude de la gp160 à se lier à son récepteur CD4 [25, 27].

En traitant les particules virales par la N-glycanase, la gp41 et la gp120 présentes à la surface du VIH ont pu être complètement déglycosylées : ce traitement ne supprime ni la liaison du VIH aux cellules CD4⁺ ni leur infection [27]. Ainsi, les glycanes des glycoprotéines d'enveloppe mûres du VIH ne sont indispensables ni pour obtenir une liaison spécifique de forte affinité à son récepteur, ni pour les événements postérieurs à la fixation du virus à la cellule.

Pourtant, il a été montré que l'incubation du VIH avec certaines lectines reconnaissant les motifs oligomannosidiques bloque l'infection des cellules CD4⁺ [10, 11]. Cela est apparemment en contradiction avec les conclusions selon lesquelles les glycanes des glycoprotéines mûres ont peu d'influence sur leur bioactivité. En réalité, l'inhibition par les lectines de l'infection par VIH n'est sans doute pas le reflet de l'implication des glycanes dans la fixation du virus aux cellules : elle s'explique plutôt par l'encombrement stérique dû à la fixation de ces lectines sur les sites de

liaison entre la gp120 et CD4 ou sur des régions impliquées dans des événements ultérieurs.

Applications thérapeutiques potentielles ou en cours

Les inhibiteurs de la N-glycosylation affectent le pouvoir infectant du VIH en agissant sur plusieurs propriétés de ses glycoprotéines d'enveloppe (conformation de la région V3, clivage, bioactivité) (voir plus haut). En raison de leur faible toxicité cellulaire, il était donc intéressant d'utiliser ce type d'antibiotiques dans le cadre d'une polychimiothérapie anti-VIH. Quelques effets secondaires mineurs (diarrhées) sont apparus lors d'essais en phase I de tels traitements combinés avec un traitement par AZT. Des essais en phase II d'analogues dépourvus de ces effets secondaires sont actuellement en cours.

Enfin, puisque le traitement par les endoglycosidases n'affecte pas la structure tridimensionnelle fonctionnelle de la molécule, il serait intéressant d'utiliser des molécules déglycosylées dans une préparation vaccinale pour induire des réponses immunes indépendantes de la glycosylation et dirigées contre des molécules ayant une structure tridimensionnelle correcte débarrassée de toute protection glucidique.

Conclusions

Les glycanes de env sont donc nécessaires pour créer [14, 16] — et non pour maintenir [25, 27] — la struc-

ture fonctionnelle des glycoprotéines d'enveloppe du VIH (*Tableau 1*). Un vaste champ d'investigation demeure : quelles sont les régions de *env* dont la glycosylation est indispensable à l'acquisition de la structure tridimensionnelle ? par quel biais agissent alors les glycanes ? Comme nous l'avons constaté, la glycosylation est impliquée dans l'acquisition de la structure tridimensionnelle des glycoprotéines du VIH. Agir sur ce mécanisme modulable peut donc être un moyen d'agir sur la structure tertiaire des molécules et d'en modifier notamment l'antigénicité et les propriétés biologiques : des voies thérapeutiques nouvelles sont ainsi mises en évidence [29, 30] ■

Remerciements

L'auteur est reconnaissant à J. C. Gluckman et I. M. Jones pour le travail mené en commun depuis quatre ans. Au cours de la rédaction du manuscrit, les suggestions de Mmes N. Blanes, M. Fenouillet et T. L. N'Guyen ainsi que l'aide de M. M. Yagello pour les illustrations ont été précieuses. Ce travail a bénéficié du soutien financier du Cnrs, de l'ANRS, de la Korber Stiftung et de l'AmFAR.

Summary

HIV N-glycosylation : from experiment to therapy

Human immunodeficiency virus type-1 (HIV) envelope precursor glycoprotein (gp160) is cleaved into gp120 and gp41 ; gp120 and gp41 are responsible for HIV tropism for CD4⁺ cells and for viral and cell membrane fusion leading to virus entry into cells, respectively. The functional role of gp160 N-linked glycans (CHO), which represent 50 % of its MW, was studied. During the biosynthesis, it was shown that CHO clusters of gp160 induce the bioactive folding of both gp41 and gp120 : the interaction between abnormally glycosylated gp120 and its CD4 receptor was altered and the accessibility of the V3 loop, a region that plays a key role in membrane fusion was diminished. Such modified properties could account for the impairment of HIV-1 infectivity by glycosylation inhibitors, the prototypes of potential anti-HIV drugs. Similarly, mutation of the gp41 cluster of glycosylation sites inhibited gp160 cleavage and abolished gp41-mediated membrane fusion. In contrast, after biosynthesis, CHO present on mature viral gp120 and gp41 are involved neither in their bioactivity nor in their conformation : the ability of deglycosylated virus to bind and to infect CD4⁺ cells was reduced by only 10 fold. CHO are then necessary to create but not to maintain the functional conformation of HIV *env* products.