

La nucléocapside du VIH-1: un paradigme pour la recherche et ses applications médicales

Jean-Luc Darlix
Chang Yu
Lionel Berthoux
Michèle Ottmann
Nathalie Jullian
Bernard Roques

Les rétrovirus (oncovirus, lentivirus et spumavirus) sont très répandus dans le monde animal et la cause de cancers, d'immunodéficiences et de dégénérescences du système nerveux central. Ce sont des virus globulaires (100-130 nm de diamètre) avec une enveloppe lipidique contenant les glycoprotéines virales de surface et transmembranaires, et une nucléocapside interne. A l'instar des rétrovirus, la nucléocapside VIH est stable et se compose d'un génome ARN dimère associé à des centaines de molécules de nucléoprotéine et de transcriptase inverse, intégrase et protéase. La nucléocapside rétrovirale, et celle de VIH-1 en particulier, est un modèle d'étude unique tant par l'originalité des structures – génome dimère, nucléoprotéine avec deux doigts de zinc – que par ses fonctions répliquatives. Ainsi, l'oligomérisation de la nucléoprotéine est essentielle à la formation et la structure du virus aussi bien qu'à la synthèse de l'ADN proviral associée à des recombinaisons qui contribuent à l'extrême variabilité de VIH. Ces données récentes devraient conduire à élaborer de nouvelles thérapies anti-VIH.

ADRESSES

J.L. Darlix : professeur, directeur de l'unité de virologie humaine Inserm-Ens U 412. C. Yu : chercheur post-doctorant, poste vert Inserm. LaboRetro, unité de virologie humaine (Inserm-Ens 412), Ecole normale supérieure de Lyon, 46, allée d'Italie, 69364 Lyon, France. L. Berthoux : étudiant. M. Ottmann : chercheur post-doctorant. N. Jullian : chercheur post-doctorante. B. Roques : professeur, directeur de l'unité de pharmacologie moléculaire. Inserm U 266, faculté de pharmacie, 4, avenue de l'Observatoire, 75006 Paris, France.

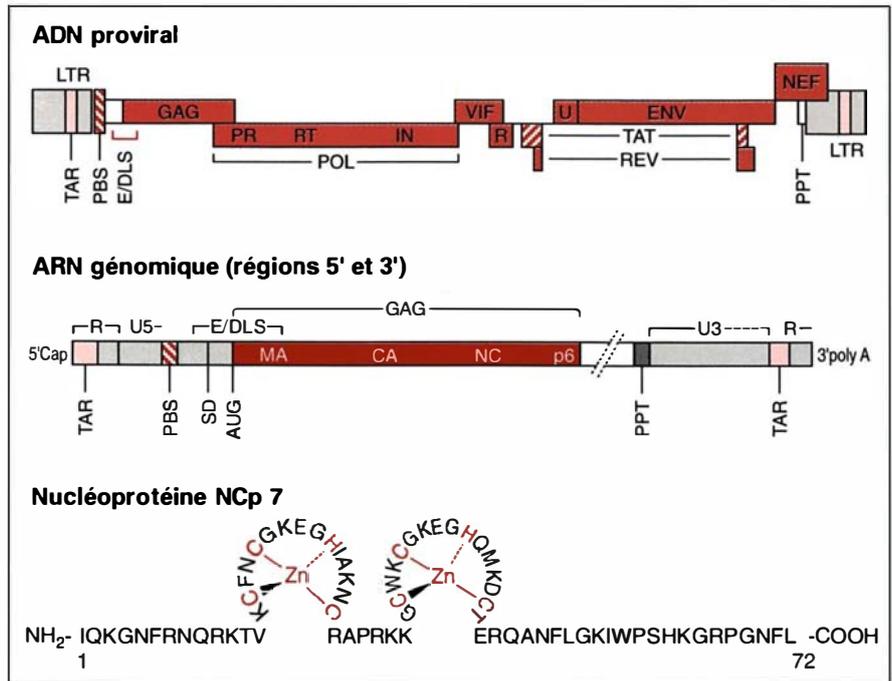
TIRÉS À PART

J.L. Darlix.

Il n'est pas possible de parler de la nucléocapside de VIH-1 sans évoquer celle d'autres rétrovirus comme les virus aviaires (ASLV, *avian sarcoma and leukemia virus*) et murins (MLV, *murine leukemia virus*) car leur étude a été et continue d'être un passage obligé pour mieux comprendre et étudier la structure et la répllication du VIH [1]. C'est pourquoi de fréquentes références seront faites à ces virus dans cette simple et brève revue nécessairement simplifiée.

La nucléocapside a une structure générale compacte et hélicoïdale et c'est la sous-structure virale la plus stable [2]. Une fois déroulée par des traitements utilisant des détergents, la nucléocapside semble être circulaire et contenir des assemblages apparentés à des nucléosomes [3, 4]. La nucléocapside isolée est capable de conduire *in vitro* la synthèse d'ADN proviral de haut poids moléculaire et infectieux en présence de nucléotides et d'une faible concentration en détergent [3, 5-7].

Figure 1. **Organisation du provirus HIV-1 et de la région 5' du génome viral, et séquence de la nucléoprotéine NcP7.** Les LTR (long terminal repeats) contiennent les signaux d'initiation et de terminaison de la transcription du provirus. Ils contiennent aussi des signaux multiplicateurs de la transcription reconnus par des facteurs de transcription comme le facteur NF- κ B. De plus, les extrémités 5' et 3' des LTR sont nécessaires à l'intégration de l'ADN proviral dans le génome de la cellule hôte. L'élément TAR est reconnu sous forme d'ARN par le transactivateur viral TAT. La séquence PBS (primer binding site) est le site d'hybridation de l'ARN^{t_{lys,3}} qui sert d'amorce répliquative pour la synthèse de l'ADN proviral de polarité -. La séquence PPT (polypurine tract) est l'amorce de la synthèse de l'ADN proviral de polarité +. Il est à noter qu'à l'image des autres rétrovirus la synthèse de l'ADN proviral + commence sans doute en plusieurs points [5, 6]. Le signal E/DLS est nécessaire à la dimérisation et l'encapsidation du génome viral [14, 15, 80]. Les bornes des cistrons gag, pol et env sont indiquées. Le cistron gag code pour le précurseur Pr55^{gag} qui sera mûri au cours de la morphogenèse du virus en MAp17, CAp24, NCp15 et cette dernière protéine pourra être ensuite mûrie en NCp7 et p6. Le cistron pol est exprimé sous forme d'un précurseur Pr160gag-pol qui sera mûri en produits de gag et de pol, c'est-à-dire la protéase PRp12, la transcriptase inverse RTp66/p51 et l'intégrase INp32. Il est à noter que la maturation du Pr160gag-pol est supposée engendrer une nouvelle nucléoprotéine NCp7* dont l'extrémité C-terminale est différente de celle de la NCp7. Cela reste à confirmer ainsi que les fonctions éventuelles de cette NCp7*. Les produits des cistrons TAT, REV, VPU (U), VPR (R), VIF et NEF sont des protéines qui interviennent au cours du cycle de réplication virale: pour (1) activer l'expression du provirus (TAT), (2) régler l'épissage de l'ARN viral et le transport des ARN viraux non et mono-épissés du noyau au cytoplasme (REV avec l'élément RRE situé dans le cistron env), (3) activer la maturation et le transport des glycoprotéines virales SUgp120 et TMgp41 (VPU), (4) augmenter l'inféctivité du virus en intervenant probablement à un stade tardif de la morphogenèse du virus (VIF et NEF), et en contribuant au transport du complexe de préintégration du cytoplasme au noyau (VPR). Les régions 5' et 3' de l'ARN génomique sont indiquées, ce qui permet de situer la séquence codant pour la NCp15 (NCp7+p6). La séquence de la nucléoprotéine NCp7 est indiquée en symboles à une lettre (A : Ala ; C : Cys ; D : Asp ; E : Glu ; F : Phe ; G : Gly ; H : His ; I : Ile ; K : Lys ; L : Leu ; M : Met ; N : Asn ; P : Pro ; Q : Gln ; R : Arg ; S : Ser ; T : Thr ; V : Val ; W : Trp ; Y : Tyr). Il est remarquable de constater que les résidus mutés en N-terminal (voir Tableau 1) sont conservés dans les très nombreux clones VIH-1 séquencés ainsi que chez VIH-2 et SIV (R⁷, R¹⁰, K¹¹, K¹⁴). Il en est de même de la séquence interdigitée ²⁹RAPRKKG qui est conservée dans les clones VIH-1 séquencés et, dans SIV, un seul changement de résidu est observé (RAPRRQG) (K et R étant, par ailleurs, considérés de même nature) [81]. De même, les doigts de zinc sont extrêmement conservés avec, en particulier, une organisation tétraédrique autour du zinc assurée par 3 cystéines et 1 histidine portées par une séquence CX₂CX₄HX₄C. Enfin, deux résidus aromatiques (ici F et W) sont toujours présents dans les isolats de VIH séquencés [81].



La nucléocapside comprend un génome ARN dimère, environ 2000 molécules de nucléoprotéine, 50 molécules de transcriptase inverse, d'intégrase et de protéase, ainsi que des ARN d'origine cellulaire comme des ARNt, libres et associés au génome ARN, et des ARN 5S, 7S, 18S et 28S* [1, 8]. Les molécules de nucléoprotéine sont pour la plupart fixées au génome ARN dimère et c'est pourquoi il est

nécessaire de traiter les virus avec des détergents forts et la protéinase K, puis avec du phénol, pour pouvoir extraire et purifier le génome rétroviral. Isolé du virus, le génome ARN apparaît comme un complexe hétérogène de haut poids moléculaire, 60-80S* [9, 10], formé par l'association intime entre deux molécules identiques

d'ARN viral non épissé qui, à l'image des ARNm cellulaires, est de sens positif et possède une coiffe en 5' et une extension polyA en 3' [8, 11]. Des ARNt cellulaires sont associés au génome viral et en particulier l'ARNt^{lys,3} qui est l'amorce répliquative hybridée au site d'initiation de la transcription inverse (PBS) en 5' du génome (figure 1) [12, 13].

L'association des deux molécules

* S : Unité Svedberg d'ultracentrifugation.

RÉFÉRENCES

1. Coffin J. Genome structure. In : Weiss R, Teich N, Varmus H, Coffin J, eds. *RNA tumor viruses*. Part 2. New York, 2nd ed. Cold Spring Harbor: Cold Spring Harbor Laboratory, 1985: 17-74.
2. Davis N, Rueckert. Properties of a ribonucleoprotein particle isolated from NP 40 treated RSV. *J Virol* 1972; 10: 1010-20.
3. Chen M, Garon C, Papas T. Native ribonucleoprotein is an efficient transcriptional complex of avian myeloblastosis virus. *Proc Natl Acad Sci USA* 1980; 77: 1296-300.
4. Pager J, Coulaud D, Delain E. Electron microscopy of the nucleocapsid from disrupted MoMuLV and of associated type VI collagen-like filaments. *J Virol* 1994; 68: 223-32.
5. Gilboa E, Goff S, Shields A, Yoshimura F, Mitra S, Baltimore D. *In vitro* synthesis of a 9 Kbp terminally redundant DNA carrying the infectivity of MoMuLV. *Cell* 1979; 16: 863-74.
6. Junghans R, Boone R, Skalka AM. Products of reverse transcription in avian retrovirus analysed by electron microscopy. *J Virol* 1982; 43: 544-54.
7. Borroto-Esoda K, Boone L. EIAV and HIV DNA synthesis *in vitro*: characterization of the endogenous reverse transcriptase reaction. *J Virol* 1991; 65: 1952-9.
8. Darlix JL. Eléments de structure et de variabilité du rétrovirus humain HIV-1. *Bull Inst Pasteur* 1991; 89: 211-42.
9. Canaani E, von Der Helm K, Duesberg P. Evidence for 30-40S RNA as precursor of the 60-70S RNA of Rous sarcoma virus. *Proc Natl Acad Sci USA* 1973; 72: 401-5.
10. Stoltzfus M, Snyder P. Structure of B77 sarcoma virus RNA: stabilization of RNA after packaging. *J Virol* 1975; 16: 1161-70.
11. Bender W, Chien Y, Chattopadhyay S, Vogt P, Gardner M, Davidson N. High molecular weight RNAs of AKR, NZB, and wild mouse viruses and avian reticuloendotheliosis virus all have similar dimer structures. *J Virol* 1978; 25: 888-96.
12. Barat C, Lullien V, Schatz O, Grüniger-Leitch M, Le Grice S, Nugeyre MT, Barré-Sinoussi F, Darlix JL. HIV-1 reverse transcriptase specifically interacts with the anti-codon domain of its cognate primer tRNA. *EMBO J* 1989; 8: 3279-85.
13. Van Beveren C, Coffin J, Hughes S, Appendix C. In : Weiss R, Teich N, Varmus H, Coffin J, eds. *RNA tumor viruses*, Cold Spring Harbor: Cold Spring Harbor Laboratory Press, 1984: 928-39.
14. Darlix JL, Gabus C, Nugeyre MT, Clavel F, Barré-Sinoussi F. Cis elements and trans acting factors involved in the RNA dimerization of HIV-1. *J Mol Biol* 1990; 216: 689-99.
15. Marquet R, Baudin F, Gabus C, Darlix JL, Mougél M, Ehresmann C, Ehresmann B. Dimerization of human immunodeficiency virus type 1 RNA: stimulation by cations and possible mechanism. *Nucleic Acids Res* 1991; 19: 2349-57.
16. Prats A, Roy C, Wang P, Roy C, Paoletti C, Darlix JL. Cis elements and trans-acting factors involved in dimer formation of MuLV RNA. *J Virol* 1990; 64: 774-83.
17. Bieth E, Gabus C, Darlix JL. A study of the dimer formation of Rous sarcoma virus RNA and of its effect on viral protein synthesis *in vitro*. *Nucleic Acids Res* 1990; 18: 119-26.
18. Darlix JL, Bromley P, Spahr PF. Analysis of RSV RNA structure by means of specific nucleases. *Virology* 1978; 90: 317-29.
19. Darlix JL. Control of RSV genome translation and packaging by the 5' and 3' untranslated sequences. *J Mol Biol* 1986; 189: 421-34.
20. Darlix JL, Spahr PF. Binding sites of viral protein p19 onto RSV RNA and possible control of viral functions. *J Mol Biol* 1982; 160: 147-61.
21. Henderson L, Bowers M, Sowder R, et al. Gag proteins of the highly replicative MN strain of HIV-1: post-translational modifications, proteolytic processings and complete amino acid sequences. *J Virol* 1992; 66: 1856-65.
22. Henderson L, Copeland T, Sowder R, Smythers G, Oroszlan S. Primary structure of the low molecular weight nucleic acid-binding proteins of MuLVs. *J Biol Chem* 1981; 256: 8400-6.
23. Maurer B, Bannert H, Daral G, Flügel R. Analysis of the primary structure of the LTR and the gag and pol genes of the human spumaretrovirus. *J Virol* 1988; 62: 1590-7.
24. Covey SN. Amino acid sequence homology in GAG region of reverse transcribing elements and the coat protein gene of cauliflower mosaic virus. *Nucleic Acids Res* 1986; 14: 623-33.
25. Mély Y, Cornille F, Fournié-Zaluski MC, Darlix JL, Roques B, Gérard D. Investigation of Zinc binding affinities of MoMuLV nucleocapsid protein and its related zinc finger and modified peptides. *Biopolymers* 1991; 31: 899-906.
26. Darlix JL, Vincent A, Gabus C, de Rocquigny H, Roques B. Trans-activation of the 5' to 3' viral DNA strand transfer by nucleocapsid protein during reverse transcription of HIV-1 RNA. *C R Acad Sci, Life Sci* 1993; 316: 763-71.
27. Nissen-Meyer J, Abraham A. Specificity of RNA binding by the structural protein (p10) of F-MuLV. *J Mol Biol* 1980; 142: 19-28.

d'ARN viral est maintenue par de nombreuses interactions ARN/ARN dont une majeure est située en 5' du génome et appelée structure dimère (DLS, *dimer linkage structure*). Chez VIH-1 comme chez les rétrovirus aviaires et murins, la DLS serait une structure originale correspondant à des appariements de bases non canoniques, et nécessaire à la formation du génome dimère et son encapsidation dans la particule virale [14-17]. A l'image de ce qui a été observé chez ASLV et MLV, de nombreuses interactions mineures, y compris des interactions 5'/3' [18, 19], maintiendraient les deux monomères dans un complexe 60-80S pour optimiser la synthèse de l'ADN proviral et donc la viabilité virale (voir transcription inverse et recombinaisons). Les molécules de nucléoprotéine sont fixées au génome ARN dimère dans la nucléocapside, mais leur distribution ne semble pas être homogène le long du génome comme le suggère la présence d'assemblages apparentés à des nucléosomes chez ASLV et MLV [3, 4]. En accord avec ces observations, un nombre restreint de sites de fixation, dits à haute affinité, pour la nucléoprotéine ont été identifiés chez ASLV et MLV [16-20], et au niveau de ces sites on peut remarquer une multimérisation de la nucléoprotéine [20]. Des données similaires ont pu être obtenues chez VIH-1 *in vitro* [14], mais il reste à les confirmer dans le contexte viral.

La nucléoprotéine : une miniprotéine basique avec deux doigts de zinc

La nucléoprotéine de VIH-1 (NCp15/NCp7) est d'abord exprimée sous forme du précurseur Pr55gag par traduction de l'ARN viral non épissé (ou génome monomère). La maturation du précurseur Pr55gag par la protéase virale intervient lors de la morphogénèse virale et produit la NCp15 qui se divise ensuite en NCp7 et p6 (*figure 1*) [13, 21]. A l'image des nucléoprotéines rétrovirales, la NCp7 est une petite protéine très basique avec deux motifs « CCHC » aussi appelés « doigts de zinc » (*figure 1*). Il est à noter que, chez des oncovirus aviaires et murins, la nucléoprotéine ne possède qu'un

Tableau I

EFFETS DE MUTATIONS DANS LA NUCLÉOPROTÉINE DE VIH-1 SUR LA PRODUCTION, LA STRUCTURE ET L'INFECTIVITÉ VIRALES

Virus	Virions et Microscopie	Maturation de Gag	Génome	Infectivité (ui/ml)	Stabilité à 24 h
WT	++,m	++	+++	10 ⁷	10 ⁵
R ⁷ R ¹⁰ K ¹¹ >SSS	++,m	++	++	10 ⁴	10 ²
R ²⁹ >S	++,m	++	+++	10 ⁷	10 ⁴
RKK ³⁴ >SSS	++,m	++	+	10 ⁵	1
K ⁵⁹ >L	++,nd	++	+	10 ³	
K ¹⁴ >D	++,m	++	++	1	
A ³⁰ >P	++,nd	++	+	1	
P ³¹ >L	++,im	+	+++	0	
R ³² >G	++,im	++	+	0	
H ²³ >C	++,m	++	+	0	

Les mutations dans la nucléoprotéine ont été introduites par mutagenèse dirigée dans le clone moléculaire infectieux pNL4.3 puis les effets de ces mutations ont été analysés comme indiqué dans Ottmann *et al.* [51]. Les lettres et les chiffres correspondent aux mutations introduites dans la séquence de la nucléoprotéine, c'est-à-dire l'arginine en position 29 changée en sérine, donc R²⁹>S. Le génotype « sauvage » est indiqué par WT. La production de virions est indiquée par ++, et si les virions sont mûrs en microscopie électronique, il s'agit de « m ». S'ils sont immatures, il s'agit de « im » (nd, non déterminé). La maturation du précurseur Pr55^{gag} en protéines M_{AP}17, CA_P24 et NC_P7/p15 est indiquée par ++ (80-100 %) et + (30-50 %). L'encapsidation du génome ARN dimère est indiquée par +++ (80-100% du type sauvage, WT), ++ (30-50% du WT) et + (10-20% du WT). L'infectivité du virus a été estimée en utilisant les effets cytopathogènes et le test de la transcriptase inverse, et la méthodologie du point de dilution limite (ui/ml, unité infectieuse par ml de surnageant de culture de cellules infectées par VIH-1). Les acides aminés sont représentés ici par leur code à une lettre.

doigt de zinc alors que, chez les spumavirus, ce motif semble être remplacé par des domaines riches en résidus basiques R et K [13, 21-25]. Le doigt de zinc est riche en résidus basiques et aromatiques et complexe le Zn²⁺ avec une très forte affinité, 10¹²-10¹³ M⁻¹ [30, 31], mais il est très sensible à l'oxydation *in vitro*, ce qui altère notablement l'activité hybridase de la NC_P7, c'est-à-dire la catalyse de l'hybridation entre brins complémentaires d'acides nucléiques (cf. ci-après) [26, 27].

La nucléoprotéine fut d'abord purifiée à partir de virions VIH-1, puis d'une souche de *E. coli* surexprimant la NC_P15 [14]. Plus récemment, un pas important a été franchi en produisant, par synthèse chimique, la NC_P10 [28], puis la NC_P7 de VIH-1 en grande quantité, très pures et, dans le cas de la NC_P7, aussi active *in vitro* que la NC_P15 [29, 31, 32]. C'est grâce à cette stratégie que de nombreuses études structurales et biochimiques de la NC_P7, de mutants et de dérivés, ont pu être entreprises [31, 32, 58]. La figure 2 montre la structu-

re en trois dimensions de la NC_P7, établie par résonance magnétique nucléaire et modélisation moléculaire, où la zone centrale est globulaire avec les doigts de zinc se faisant face et conduisant à une distance d'environ 7Å entre les cercles ¹⁶Phe et ³⁷Trp [32, 33]. Les domaines N- et C-terminaux ont une conformation assez flexible, sauf au niveau de courtes séquences telles que ⁵⁶FLGKIW (Julian *et al.*, soumis). Nous verrons plus loin que la conformation globulaire de ce court domaine central de la NC_P7 et l'arrangement particulier des doigts de zinc sont capitaux pour la production de virus infectieux.

La reconnaissance des acides nucléiques par la nucléoprotéine : fixation, hybridation de séquences complémentaires et transfert de brin

La nucléoprotéine de VIH-1, comme celle de MLV et d'ASLV, se fixe aux acides nucléiques grâce à son caractè-

re fortement basique [29]. De nombreux travaux ont analysé les paramètres qui régissent les interactions de la nucléoprotéine rétrovirale avec les acides nucléiques simple et double brins [34-37]. Une majorité de travaux montrent que la nucléoprotéine a le plus d'affinité pour l'ARN viral [29, 34, 35, 37] alors que d'autres soulignent le caractère « aspécifique » de la nucléoprotéine [36]. On peut sans doute réconcilier ces observations en notant que dès 1980 plusieurs auteurs ont observé que la nucléoprotéine de MLV perdait rapidement sa spécificité pour l'ARN viral [27]. Plus récemment, nous avons pu montrer que la nucléoprotéine était sensible à l'oxydation et qu'il en résultait une baisse notable de son affinité pour l'ARN viral, et une disparition quasi complète de son activité hybridase (voir paragraphe suivant) [26].

Dans des conditions où la NC_P7 est à l'état natif, elle se fixe de manière coopérative aux acides nucléiques avec les affinités relatives suivantes :

ARN viral > ARN et ADN simple brin

RÉFÉRENCES

28. Cornille F, Mely Y, Ficheux D, Salvignol I, Gérard D, Darlix JL, Fournié-Zaluski MC, Roques B. Solid phase synthesis of the retroviral nucleocapsid protein NCp10 of Moloney murine leukemia virus and related zinc-fingers in free SH forms: influence of zinc chelation on structural and biochemical properties. *Int J Pept Protein Res* 1990; 36: 551-8.

29. De Rocquigny H, Gabus C, Vincent A, Fournié-Zaluski MC, Roques B, Darlix JL. Viral RNA annealing activities of HIV-1 nucleocapsid protein require only peptide domains outside the zinc fingers. *Proc Natl Acad Sci USA* 1992; 89: 6472-6.

30. Dannull J, Surovov A, Jung G, Moelling K. Specific binding of HIV-1 nucleocapsid protein to PSI RNA *in vitro* requires N-terminal zinc finger and flanking basic amino acid residues. *EMBO J* 1994; 13: 1525-33.

31. Morellet N, Julian N, De Rocquigny H, Maignret B, Darlix JL, Roques B. ¹H NMR derived conformation of the nucleocapsid protein NCp7 of human immunodeficiency virus type 1. *EMBO J* 1992; 11: 3059-65.

32. Morellet N, de Rocquigny H, Mély Y, Julian N, Deméné H, Ottmann M, Gérard D, Darlix JL, Fournié-Zaluski MC, Roques B. Conformational behaviour of the active and inactive forms of the nucleocapsid NCp7 of HIV-1 studied by ¹H-NMR. *J Mol Biol* 1992; 235: 287-301.

33. Mély Y, Julian N, Morellet N, de Rocquigny H, Dong CZ, Piemont E, Roques BP, Gérard D. Spatial proximity of the HIV-1 nucleocapsid protein zinc fingers investigated by time-pulse fluorescence and fluorescence resonance energy transfer. *Biochemistry* 1994; 33: 12085-91.

34. Davis J, Scherer M, Tsai W. P. Long C. Low-molecular-weight Rauscher leukemia virus protein with preferential binding for single-stranded RNA and DNA. *J Virol* 1976; 18: 709-18.

35. Leis J, Jentoft J. Characteristics and regulation of interaction of avian retrovirus pp12 protein with viral RNA. *J Virol* 1983; 48: 361-9.

36. Smith BJ, Bailey JM. The binding of an avian myeloblastosis virus basic 12,000 dalton protein to nucleic acids. *Nucleic Acids Res* 1979; 7: 2055-71.

37. Sykora KW, Moelling K. Properties of the avian viral protein p12. *J Gen Virol* 1981; 55: 379-91.

38. Lapadat-Tapolsky M, de Rocquigny H, van Gent D, Roques B, Plasterk R, Darlix JL. Interactions between HIV-1 nucleocapsid protein and viral DNA may have important functions in the viral life cycle. *Nucleic Acids Res* 1993; 21: 831-9.

39. Berkowitz R, Luban J, Goff S. Specific binding of HIV type 1 gag polyprotein and nucleocapsid protein to viral RNAs detected by RNA mobility shift assays. *J Virol* 1993; 67: 7190-200.

40. Allain B, Lapadat-Tapolsky M, Berlioz C, Darlix JL. Trans-activation of the minus-strand DNA transfer by nucleocapsid protein during reverse transcription of the retroviral genome. *EMBO J* 1994; 13: 973-81.

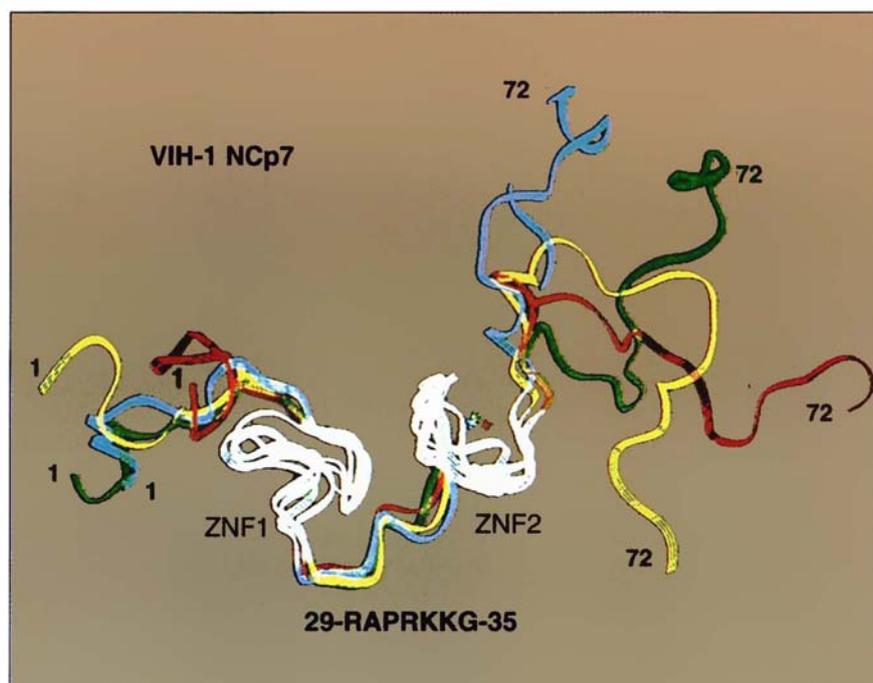


Figure 2. Superposition en mode ruban de quatre parmi les 7 meilleures structures de la nucléoprotéine NCp7 en solution (rubans blanc, vert, jaune, bleu). L'acide aminé N-terminal (1) et l'acide aminé C-terminal (72) sont indiqués sur chaque ruban. Les doigts de zinc sont représentés par ZnF1 et ZnF2 (zinc fingers 1 et 2) et sont en blanc. La région interdigitée correspond à la séquence 29-RAPRKKG-35, et permet un repliement de la chaîne de façon à rapprocher les deux motifs de zinc. Il est à noter que l'ensemble allant de ZnF1 à ZnF2 adopte une structure stable et globulaire [31, 32].

> ADN double brin > ARNt > ADN courts [38]. Cette fixation préférentielle à l'ARN viral semble dépendre dans une large mesure de séquences en 5', le leader qui, en moins de 500 nt, rassemble des séquences essentielles à l'épissage (SD), l'initiation de la traduction (AUGgag), la dimérisation et l'encapsidation du génome (E/DLS), et l'initiation de la transcription inverse (PBS, R) (figure 1) [14, 38, 39].

Une molécule de NCp7 couvre environ 5 à 10 nucléotides sur l'ARN viral et à ce stade on assiste à la formation de complexes de haut poids moléculaire qui résultent très probablement d'interactions NCp7/NCp7 se surajoutant aux interactions entre la nucléoprotéine et l'ARN [8, 14, 20, 30, 34, 35, 38]. Ces deux types d'interactions vont donc provoquer une surconcentration locale des macromolé-

cules biologiques et ainsi favoriser la synthèse de l'ADN viral [12, 16, 26]. Dans ces complexes, les molécules de nucléoprotéine forment aussi un écran qui protège, toutefois de manière incomplète, les acides nucléiques de l'action des nucléases [37, 38].

Outre ses propriétés de fixation et de condensation des acides nucléiques, la nucléoprotéine est capable de provoquer une hybridation très rapide et extensive d'acides nucléiques ayant des séquences complémentaires et dans des conditions physiologiques. Ainsi la NCp7 de VIH-1 et la NCp10 de MLV hybrident des oligonucléotides d'ADN (de 15-20 nt) à un ARN viral ayant une forte structure secondaire [16, 17, 38, 40]. De plus, la NCp7 est capable de promouvoir l'hybridation d'ARN et ADN de 50 à 100 nt ayant des séquences complé-

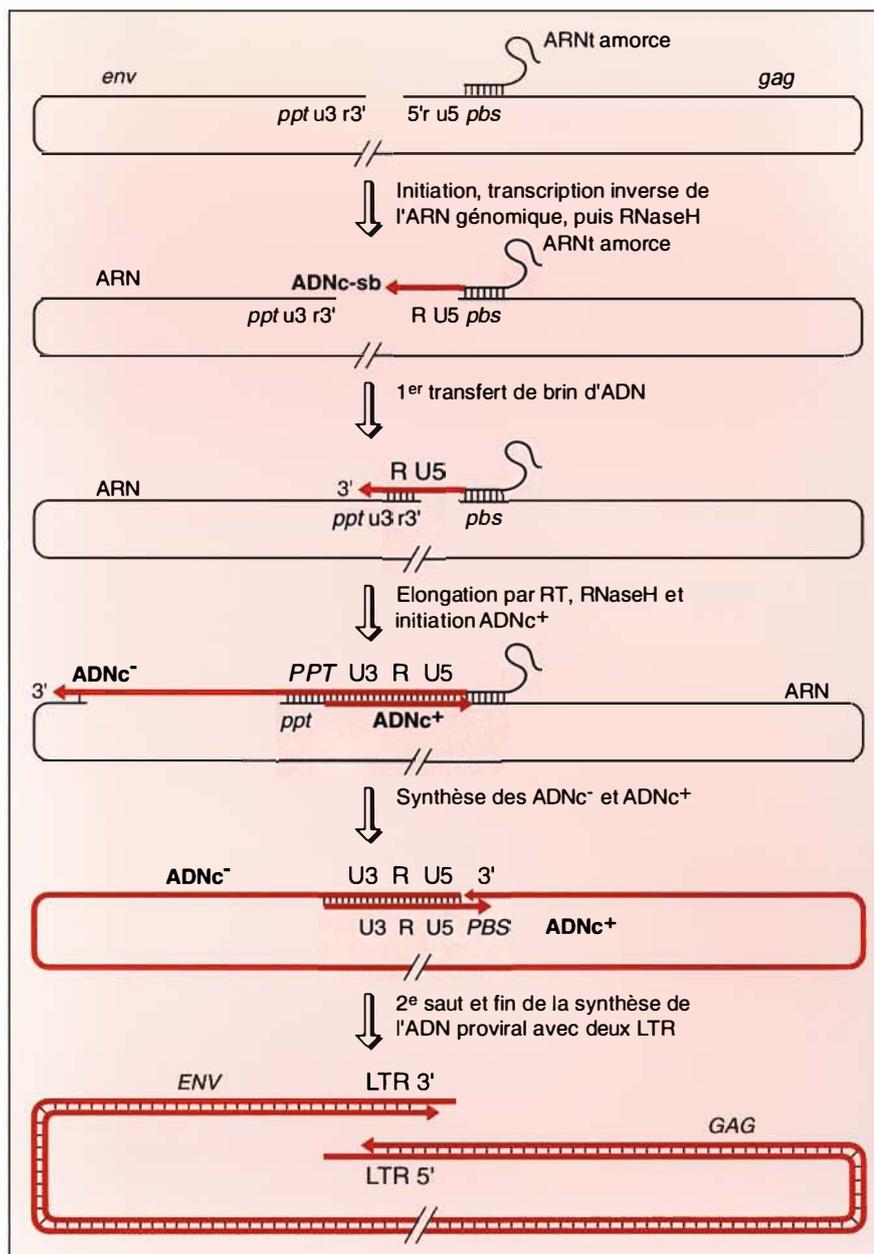


Figure 3. **Schéma des étapes majeures de la transcription inverse du génome rétroviral.** Ce schéma représente de manière très simplifiée les étapes majeures de la synthèse du provirus. C'est ainsi qu'une seule des deux molécules d'ARN du génome rétroviral est indiquée. Notons que l'ARN génomique est souvent affecté de coupures provoquées par des nucléases (génome en morceaux) ; dans ces conditions, la présence des deux molécules est indispensable pour la synthèse d'un provirus complet par la copie alternative des deux ARN génomiques en morceaux. Il s'agit là de multiples recombinaisons [72-76] probablement activées par la nucléoprotéine. La transcriptase inverse RTp66/p51 et les molécules de nucléoprotéines ne sont pas représentées ; seuls le sont les produits ADN⁻ et ADN⁺. Les lettres minuscules correspondent aux séquences ARN, alors que les majuscules correspondent à l'ADN. Une seule initiation de l'ADN⁺ est représentée, mais il est probable que l'ADN⁺ est initié en plusieurs sites [1, 5, 6, 73, 76]. La dernière étape implique la synthèse des deux LTR par déplacement des deux brins au niveau du LTR 5' (flèches). L'ADN proviral linéaire avec ses deux LTR semble être le précurseur majeur du provirus. env : gène d'enveloppe ; pbs : primer binding site, site d'initiation de la transcription inverse du brin d'ADN⁻ ; ppt : polypyrimidine tract, l'un des sites majeurs d'initiation de la synthèse du brin d'ADN⁺ ; ADNc-sb : ADNc simple brin.

mentaires pour engendrer en quelques minutes et en conditions physiologiques des acides nucléiques double brins ARN: ARN, ARN: ADN et ADN: ADN [38]. Enfin, et ce n'est pas une des moindres propriétés de la NCp7, la nucléoprotéine possède une activité de transfert et de déplacement de brin qui favorise la formation de l'acide nucléique double brin le plus stable ([41], Lapadat-Tapolsky et Darlix, résultats non publiés). En accord avec ces observations, il a été montré que la NCp7 stimulait l'activité ribozyme *in vitro* [42]. En conclusion, la NCp7, probablement à l'image des nucléoprotéines rétrovirales, se fixe aux acides nucléiques (avec une préférence pour l'ARN viral), induit leur condensation et les protège, mais imparfaitement, de l'action des nucléases. La NCp7 possède également des activités hybridase et de transfert/déplacement de brin qui semblent être essentielles à la dimérisation de l'ARN viral et à la synthèse de l'ADN proviral double brin (figure 3).

Les fonctions de la NCp7 dans le cycle viral: une protéine de structure du virus et le cofacteur de la transcriptase inverse

Comme nous venons de le voir, la nucléoprotéine a un rôle structural car c'est la protéine majeure de la nucléocapside où les quelque 2000 molécules sont associées au génome ARN dimère et lui assurent une relative protection à l'égard des nucléases. En outre, la nucléoprotéine a plusieurs autres fonctions liées à la morphogénèse virale et à la répllication du génome et qui résultent de ses propriétés nucléophiles, et de ses activités hybridase et de transfert de brin.

Parmi toutes les fonctions de la nucléoprotéine, celles concernant la dimérisation du génome et la transcription inverse peuvent être analysées dans un contexte viral *in vitro*. Ainsi la dimérisation du génome VIH-1 dépend à la fois de la nucléoprotéine et de séquences actives *in cis*, localisées dans le *leader* 5' et en 5' du cistron gag (figure 1), et s'effectue en 1-3 min à 30-37 °C [14]. La dimérisation de l'ARN VIH-1 peut aussi être obtenue

RÉFÉRENCES

41. Tsuchihashi Z, Brown PO. DNA strand exchange and selective DNA annealing promoted by the human immunodeficiency virus type 1 nucleocapsid protein. *J Virol* 1994; 68: 5863-70.
42. Tsuchihashi Z, Khosla M, Hershlag D. Protein enhancement of hammerhead ribozyme catalysis. *Science* 1993; 262: 99-102.
43. Prats AC, Sarih L, Gabus C, Litvak S, Keith G, Darlix JL. Small finger protein of avian and murine retroviruses has nucleic acid annealing activity and positions the replication primer tRNA onto genomic RNA. *EMBO J* 1988; 7: 1777-83.
44. Housset V, de Rocquigny H, Roques B, Darlix JL. Basic amino acids flanking the zinc finger of Moloney murine leukaemia virus are critical for virus infectivity. *J Virol* 1993; 67: 2537-45.
45. Chazal N, Carrière Ch, Gay B, Boulanger P. Phenotypic characterization of insertion mutants of HIV-1 gag precursor expressed in recombinant baculovirus-infected cells. *J Virol* 1994; 68: 111-22.
46. Göttinger HG, Sodroski JG, Haseltine W. Role of capsid precursor processing and myristoylation in morphogenesis and infectivity of human immunodeficiency virus type-1. *Proc Natl Acad Sci USA* 1989; 86: 5781-5.
47. Jowett J, Hockley D, Nermut M, Jones I. Distinct signals in HIV-1 Pr55 necessary for RNA binding and particle formation. *J Gen Virol* 1992; 73: 3079-86.
48. Freed E, Orenstein J, Buckler-White A, Martin M. Single amino acid changes in HIV-1 matrix protein block virus particle production. *J Virol* 1994; 68: 5311-20.
49. Mammano F, Öhagen A, Höglung S, Göttinger H. Role of the major homology region of HIV-1 in virion morphogenesis. *J Virol* 1994; 68: 4927-36.
50. Shin CG, Taddeo B, Haseltine WA, Farnet CM. Genetic analysis of the immunodeficiency virus 1 integrase protein. *J Virol* 1994; 68: 1633-42.
51. Ottmann M, Gabus C, Darlix JL. The central globular domain of HIV-1 NC protein is critical for virion formation and infectivity. *J Virol* 1995 (sous presse).
52. Kaplan A, Manchester M, Swanstrom R. The activity of the protease of HIV-1 is initiated at the membrane of infected cells before the release of viral proteins and is required for the release to occur with maximum efficiency. *J Virol* 1994; 68: 6782-6.
53. Peng C, Ho B, Chang T, Chang N. Role of HIV-1 specific protease in core maturation and viral infectivity. *J Virol* 1989; 63: 2550-6.
54. Gorelick RJ, Henderson LE, Hanser JP, Rein A. Roles of nucleocapsid cysteine arrays in retroviral assembly and replication: possible mechanisms in RNA replication. In: Kumar A, ed. *Advances in molecular biology and targeted treatment for AIDS*. New York: Plenum Press, 1991.
55. Gorelick RJ, Chabot DJ, Rein A, Henderson LE, Arthur LO. The two zinc fingers in the immunodeficiency virus type 1 nucleocapsid protein are not functionally equivalent. *J Virol* 1993; 67: 4027-36.
56. Méric C, Gouilloud E, Spahr PF. Mutations in Rous sarcoma virus nucleocapsid protein p12 (NC): deletions of Cys-His boxes. *J Virol* 1988; 62: 3328-33.
57. Méric C, Goff S. Characterization of Moloney murine leukemia virus mutants with single amino acid substitutions in the Cys-His box of the nucleocapsid protein. *J Virol* 1989; 63: 1558-68.
58. Deméné H, Dong C, Ottmann M, et al. 1H NMR structure and biological studies of the His23 → Cys mutant nucleocapsid protein of HIV-1 indicate that the conformation of the first zinc finger is critical for virus infectivity. *Biochemistry* 1994 (sous presse).
59. Dorfman T, Luban J, Goff SP, Haseltine WA, Göttinger HG. Mapping of functionally important residues of a cysteine-histidine box in the human immunodeficiency virus type-1 nucleocapsid protein. *J Virol* 1993; 67: 6159-69.
60. Gelderblom H, Hausmann E, Ozel M, Pauli G, Koch M. Fine structure of human immunodeficiency virus (HIV) and immunolocalization of structural proteins. *Virology* 1987; 156: 171-6.
61. Wills J, Craven R. Form, function, and use of retroviral gag proteins. *AIDS* 1991; 5: 639-54.
62. Kirchner J, Sandmeyer S. Proteolytic processing of Ty3 proteins is required for transposition. *J Virol* 1993; 67: 19-28.
63. Loeb D, Padgett R, Hardies S, Shehee W, Comer M, Edgell M, Hutchinson C. The sequence of a large L1Md element reveals a tandemly repeated 5' end and several features found in retrotransposons. *Mol Cell Biol* 1986; 6: 168-82.
64. Mathias S, Scott A, Kazazian H, Boeke J, Gabriel A. Reverse transcriptase encoded by a human transposable element. *Science* 1991; 254: 1808-10.
65. Mount S, Rubin G. Complete nucleotide sequence of the Drosophila transposable element Copia: homology between Copia and retroviral proteins. *Mol Cell Biol* 1985; 5: 1630-8.
66. Mietz J, Grossman Z, Lueders K, Kuff E. Nucleotide sequence of a complete mouse intracisternal A-particle genome: relationship to known aspects of particle assembly and function. *J Virol* 1987; 61: 3020-9.

en l'absence de nucléoprotéine, mais elle est alors moins rapide et nécessite des conditions non physiologiques (> 0,3 M NaCl ou KCl et Cacodylate) [15]. Une étude systématique des domaines de la nucléoprotéine nécessaires à la dimérisation de l'ARN VIH-1 montre que les doigts de zinc ne sont pas requis alors que les domaines N- et C- terminaux le sont [29].

L'initiation de la synthèse du provirus commence par l'hybridation de l'ARN^{t_{lys}3} amorce au site PBS (*primer binding site*; figures 1 et 2) qui est sous le contrôle de la nucléoprotéine qui, semble-t-il, reconnaît l'ARNt et l'ARN VIH-1 [12, 14]. Cette mise en place dépend de la séquence PBS et du bras accepteur de l'ARNt, et est aussi très rapide *in vitro* (1-3 min à 30-37 °C) [12]. La transcriptase inverse RTp66/p51 reconnaît le 3' de l'ARNt amorce, puis l'allonge en copiant les séquences U5 et R de l'ARN VIH-1 pour donner naissance à un ADN court de polarité négative (ss-ADNc-) (*figure 3*). La poursuite de la synthèse du provirus nécessite un transfert de brin de 5' en 3' du génome qui est contrôlé par les séquences R, la nucléoprotéine et l'activité RNase H de la transcriptase inverse [1, 26, 40]. La dégradation par l'activité RNase H de la transcriptase inverse des séquences ARN U5 et R transcrites permet d'assimiler le transfert 5'-3' à une hybridation du domaine R de l'ADN court (-) au domaine complémentaire R situé en 3' de l'ARN viral (*figure 3*). En effet, cette réaction peut être reconstituée *in vitro* avec un ARN viral R+ et un ADN R-, et les résultats montrent que cette hybridation est très rapide (1-2 min à 37 °C) en présence de nucléoprotéine et dans les conditions de la synthèse du provirus par la transcriptase inverse [38, 40].

Les résultats obtenus *in vivo*, surtout avec les virus aviaire ASLV et murin MLV, confirment que la nucléoprotéine contrôle l'hybridation de l'amorce ARNt au PBS [43, 44]. Les études génétiques concernant les implications de la nucléoprotéine dans les transferts de brins nécessaires à la synthèse d'un provirus complet sont en cours.

L'assemblage de la particule virale VIH-1 a été et continue d'être l'objet de très nombreux travaux, tant en

système hétérologue, par exemple baculovirus/cellules d'insecte [45], qu'en système homologue, c'est-à-dire plasmide proviral/cellules de mammifères [46, 47]. Il ressort de ces travaux que les acides aminés N-terminaux du domaine nucléoprotéine de gag sont nécessaires à l'assemblage quand le précurseur gag est hyper-exprimé en système baculovirus/cellules d'insecte. En système homologue, où il y a seulement surexpression, il semble que la totalité du domaine nucléoprotéine de gag soit nécessaire à l'assemblage.

La formation de virus VIH infectieux passe par le coassemblage des précurseurs gag et gag-pol (*figure 1*) et par l'encapsulation du génome ARN dimère. Des résultats récents révèlent que le coassemblage des précurseurs gag et gag-pol requièrent de multiples interactions entre des domaines de gag (MA, CA et NC) ainsi que de pol (RT et IN) [47-50]. De plus, des mutations ponctuelles dans le domaine NC peuvent empêcher l'assemblage de gag-pol avec gag et, de ce fait, aboutir à la formation de virus non infectieux [51]. Enfin, des mutations bloquant la maturation de la nucléoprotéine réduisent dans une large mesure la formation de particules virales, indiquant que la présence de nucléoprotéine mûre est nécessaire pour que l'assemblage soit optimal [52, 53].

L'encapsulation du génome dans la particule virale est une étape essentielle du cycle répliatif mais elle demeure assez mal connue malgré les nombreux travaux qui lui ont été consacrés, tant sur les virus aviaire et murin, que sur VIH-1 [1, 8]. En particulier, on ne fait pas la différence entre l'encapsulation du génome dans une précapside et la possibilité que l'assemblage puisse s'organiser autour d'une prénucléocapside contenant le génome. L'encapsulation/assemblage du génome commencerait par la sélection de l'ARN viral non épissé, puis sa dimérisation et, enfin, la constitution du noyau viral. Cet ensemble d'étapes dépend étroitement de la nucléoprotéine probablement sous forme de précurseur et de protéine mûre [46, 52, 53]. Plus précisément, les doigts de zinc et les résidus basiques qui les flanquent sont essentiels et semblent coopérer dans le processus de sélection

et d'encapsulation de l'ARN génomique dimère [44, 51, 54-57].

Des résultats récents du laboratoire révèlent que des mutations de la nucléoprotéine ne modifiant que peu le niveau d'encapsulation du génome altèrent l'infectivité virale jusqu'à rendre les virus complètement non infectieux (*Tableau 1*). Deux types de mutations ont ainsi été identifiées: (1) celles modifiant le caractère basique de la nucléoprotéine et qui atténuent l'infectivité virale et peuvent déstabiliser le virus ([51] et Jullian *et al.* soumis), (*Tableau 1*); (2), celles altérant la structure des doigts ou leur orientation mutuelle et qui provoquent la perte totale de l'infectivité des virus [32, 51, 58, 59]. Ces résultats inattendus suggèrent que les molécules de nucléoprotéine contribuent à créer une architecture générale du noyau viral visant à protéger le génome de l'action extra- et intracellulaire de nucléases, et à favoriser la synthèse du provirus et son intégration dans l'ADN de la cellule hôte (Yu et Darlix, résultats non publiés).

Conclusions et perspectives

La nucléocapside du virus VIH-1 infectieux, et des rétrovirus en général, semble être un assemblage nucléoprotéique tout à la fois simple et remarquable. Cet assemblage est simple car il comprend une seule protéine majoritaire, la nucléoprotéine, deux enzymes, transcriptase inverse et intégrase, un ARN génomique et l'amorce ARN^{Lys,3}. Cet assemblage est remarquable car, malgré sa simplicité, il peut assurer de façon efficace la dissémination du génome viral, et sa transcription inverse pour produire un provirus fonctionnel, puis, à long terme, un grand nombre de virus infectieux [60, 61].

La nucléoprotéine et le génome ARN sont remarquables car ils constituent, en réalité, des condensés d'informations biologiques. Ainsi, la partie 5' du génome ARN réussit à accommoder en 500 nucléotides des séquences requises pour l'expression transcriptionnelle, l'élément TAR, l'épissage, le contexte du site d'épissage donneur (SD), la traduction de gag, le contexte de l'AUGgag, la dimérisation/encapsulation du génome, le

domaine E/DLS, l'hybridation de l'amorce ARNt et l'initiation de la transcription inverse, les domaines PBS, U5 et R et, sous forme ADN, l'intégration de l'ADN proviral et le début de la transcription du provirus (*figure 1*).

La nucléoprotéine de VIH-1 est également remarquable car cette petite protéine très basique est ubiquitaire chez les rétrovirus, et même au-delà car des équivalents sont codés par des rétrotransposons et rétroposons [62-66], a une forte affinité pour les acides nucléiques simple et double brins, avec une préférence pour l'ARN génomique, et possède des activités hybridase et de transfert de brins d'acides nucléiques. De telles activités sont très répandues dans le monde vivant et sont essentielles à la réplication des virus et, plus généralement, à la réplication de l'ADN, aux recombinaisons qui peuvent y être associées et à l'expression génétique [67]. On peut ainsi citer quelques exemples comme la protéine AdDBP de l'adénovirus [68] et l'ICP8 du virus HSV de type I [69], la protéine cellulaire p53 [70], et les protéines hnRNP-A1 et C impliquées dans l'épissage [71].

La nucléoprotéine NCp7 de VIH-1 a des fonctions clés qui contribuent à la formation, la structure et la stabilité de virus infectieux, et à la synthèse du provirus par transcription inverse du génome ARN. Dans ce sens, on peut considérer que la nucléocapside est l'architecture macromoléculaire qui limite la transcription inverse à celle du génome rétroviral et que, dans ce processus, la nucléoprotéine est sans doute le « poisson pilote » de la transcriptase inverse. Les données actuelles montrent que cette fonction de pilotage de la nucléoprotéine est nécessaire lors de l'initiation de la synthèse de l'ADN de polarité (-), et de la synthèse des LTR avec des transferts de brin d'ADN obligatoires pour aboutir à un ADN proviral infectieux (*figure 3*). Grâce à ses propriétés, on peut aussi supposer que la nucléoprotéine est un des acteurs des événements de recombinaison qui sont nombreux chez VIH et les rétrovirus [73-76].

Ces recombinaisons se distinguent des transferts de brin obligatoires pour la synthèse de l'ADN proviral avec ses deux LTR. En effet, le géno-

RÉFÉRENCES

67. Echols H. Nucleoprotein structures initiating DNA replication, transcription and site-specific recombination. *J Biol Chem* 1990; 265 : 14697-700.
68. Tucker P, Tsernoglou D, Tucker A, Coenjaerts D, Leenders H, van der Vliet P. Crystal structure of the adenovirus DNA binding protein reveals a hook-on model for cooperative DNA binding. *EMBO J* 1994; 13 : 2994-3002.
69. Dutch R, Lehman I. Renaturation of complementary DNA strands by herpes simplex virus type 1 ICP8. *J Virol* 1993 ; 67 : 6945-9.
70. Bakalkin G, Yakovleva T, Selivanova G, Magnusson KP, Szekely L, Kiseleva E, Klein G, Terenius L, Wiman KG. p53 binds single-stranded DNA ends and catalyzes DNA renaturation and strand transfer. *Proc Natl Acad Sci USA* 1994 ; 91 : 413-7.
71. Burd C, Dreyfuss G. RNA binding specificity of hnRNP A1: significance of hnRNP A1 high affinity binding sites in pre-mRNA splicing. *EMBO J* 1994 ; 13 : 1197-204.
72. Coffin JM. Structural replication and recombination of retrovirus genomes: some unifying hypotheses. *J Gen Virol* 1979 ; 42: 1-26.
73. Temin H. Sex and recombination in retroviruses. *TIG* 1991 ; 7 : 71-4.
74. Hu W, Temin H. Genetic consequence of packaging two RNA genomes in one retroviral particle: pseudodiploidy and high rate of genetic recombination. *Proc Natl Acad Sci USA* 1990 ; 87 : 1556-60.
75. Goodrich DW, Duesberg PH. Retroviral recombination during reverse transcription. *Proc Natl Acad Sci USA* 1990 ; 87 : 2052-6.
76. Linial M, Blair D. Genetic recombination. In : Weiss R, Teich N, Varmus H, Coffin J, eds. *RNA tumor viruses*, 2nd ed. Cold Spring Harbor, New York : Cold Spring Harbor Laboratory, 1985 : 719-34.
77. Darlix JL. Nouvelles perspectives en chimiothérapie antirétrovirale. *médecine/sciences* 1989 ; 5 : 213-9.
78. Rice W, Schaeffer C, Graham L, et al. The site of antiviral action of 3-nitrosobenzamide on the infectivity process of HIV in human lymphocytes. *Proc Natl Acad Sci USA* 1993 ; 90 : 9721-4.
79. Fauci AS. Immunopathogenesis of HIV infection. *J Acq Immun Defic Syndrome* 1993 ; 6 : 655-62.
80. Lever A, Göttinger Haseltine W, Sodroski J. Identification of a sequence required for efficient packaging of HIV-1 RNA into virions. *J Virol* 1989 ; 63 : 4085-7.
81. Myers G, Wain-Hobson S, Korber B, Smith R. Human retroviruses and AIDS, part II. Los Alamos Nat. Lab. (USA), 1993.

me est assez souvent cassé par des nucléases car la protection assurée par la nucléocapside est incomplète. Sachant que le génome est formé de deux molécules et que la probabilité qu'une même cassure soit présente sur les deux ARN est faible, la copie alternative des deux ARN pourrait reconstituer un ADN proviral complet en partant de deux ARN génomiques en morceaux [72-74]. Cette copie alternative et forcée des deux ARN présents dans le génome dimère assurerait ainsi la viabilité du virus, mais ces transferts de brin semblent s'accompagner de l'incorporation d'erreurs dans l'ADN proviral [26]. C'est pourquoi ces recombinaisons assureraient une grande variabilité génétique et donc une grande adaptabilité à VIH et aux rétrovirus [73-76].

La protéine majeure de la nucléocapside de VIH est la nucléoprotéine et, à cause de ses fonctions multiples au cours de la réplication du virus, assemblage, stabilité du génome, synthèse de l'ADN proviral, ce devrait être une cible majeure pour des produits anti-VIH [31, 77, 78]. La mise en évidence de ses propriétés hybridase et de transfert de brin d'acides nucléiques ouvre la voie au criblage simple et rapide d'agents anti-VIH bloquant la nucléoprotéine. Ce type d'analyse par criblage à haut flux est actuellement en cours. Par ailleurs, la connaissance à l'échelle atomique de la structure de la NCp7 [31, 32] et plus récemment de ses complexes avec des oligonucléotides simple brin (Deméné et Roques, soumis) devrait permettre une approche rationnelle dans le développement de molécules inhibant une ou plusieurs fonctions de la nucléoprotéine de VIH. Dès lors que des agents « antinucléoprotéine » auront été identifiés, puis certifiés, il sera particulièrement intéressant d'analyser leurs effets à long terme en association avec des agents antitranscriptase inverse et anti-intégrase. En effet, il apparaît aujourd'hui urgent de mettre en pratique une polythérapie anti-VIH afin de bloquer à court et à long terme la réplication de VIH, et ainsi éviter l'émergence puis la dissémination de souches VIH-résistantes à des monothérapies comme, par exemple, celles dirigées contre la transcriptase inverse [79].

Dans dix ans nous en saurons proba-

blement beaucoup plus sur la nucléocapside de VIH, et des rétrovirus en général, et un nouveau chapitre de la nucléoprotéine rétrovirale pourra sans doute être écrit tant en recherche fondamentale que dans ses applications biomédicales ■

Remerciements

Cette brève revue s'est largement inspirée de présentations faites lors d'un colloque qui s'est tenu à l'ENS de Lyon fin novembre 1994, « HIV and Retroviruses », dans le cadre des 7^{es} entretiens du centre Jacques-Cartier (A. Bideau, directeur). De nombreux travaux présentés ici sont menés au sein de l'action coordonnée 14 de l'ANRS et bénéficient du soutien financier de l'ANRS (Jean-Paul Lévy, directeur). Les travaux sur les agents « antinucléoprotéine » sont menés par Rhône-Poulenc-Rorer (Jean-François Mayaux) en collaboration avec B. Roques, J.L. Darlix et l'ANRS.

Summary

The nucleocapsid of HIV-1 : a paradigm for research and medical applications

Retroviruses, composed of the oncoviruses, lentiviruses and spumaviruses, are small animal viruses that can cause various forms of cancer, immunodeficiency and degenerative diseases of the central nervous system. The viral particle is about 110-130 nm in diameter and is formed of an inner core surrounded by an outer envelope which is a lipid bilayer of cellular origin containing the viral glycoproteins. The inner core can be subdivided into an outer shell of capsid protein molecules and the interior nucleocapsid where the dimeric RNA genome is in tight association with a large number of nucleocapsid protein molecules. The viral nucleocapsid also contains

few molecules of the viral enzymes reverse transcriptase, integrase, and protease as well as cellular RNAs. In this brief review we have summarized some of the properties and functions of the nucleocapsid of HIV-1 which appears to be a simple and specialized nucleoprotein structure. The nucleocapsid of HIV-1, and of retroviruses in general, is a highly attractive and simple model since it is formed of only one major structural protein, the NC protein, the viral enzymes and one major RNA, the viral genome, and since it achieves basic functions such as the extracellular transport and dissemination of the genome, and the synthesis of the infectious proviral DNA

in the infected cell. Recent data on the structure of the nucleocapsid protein of HIV-1 and of its functions during virus replication indicate that the nucleocapsid protein is an integral part of the reverse transcription machinery. Moreover, the nucleocapsid protein has potent nucleic acid annealing and strand transfer activities which may well promote the high rate of recombination during proviral DNA synthesis, and therefore the high genetic variability of HIV-1, and of retroviruses in general. These recent findings on the nucleocapsid protein of HIV-1 should have important applications in the development of anti-HIV therapies.