

# Une protéine du virus de l'herpès simplex active, à la place de Rev et Rex, le transport nucléocytoplasmique des messagers qui codent pour les glycoprotéines d'enveloppe des rétrovirus humains

La régulation du transport nucléocytoplasmique des ARNm participe au contrôle de l'expression génique dans son ensemble. Les mécanismes impliqués, encore loin d'être élucidés, requièrent la présence de signaux spécifiques qui doivent permettre la prise en charge et le transport des ARNm jusqu'aux pores nucléaires et, au-delà, dans le cytoplasme [1]. Aujourd'hui, le mécanisme le mieux connu de transport des ARNm est probablement celui mis en jeu lors de l'expression du virus de l'immunodéficience humaine (VIH). Une fois l'ADN proviral intégré, l'expression du génome s'effectue selon un plan très précis (figure 1), qui débute avec les premières étapes de la transcription, se poursuit avec la synthèse des protéines structurales du virion et se termine par leur assemblage autour de deux molécules d'ARN génomique viral [2]. En absence de toute protéine virale, le transcrit primaire reste séquestré dans le noyau jusqu'à ce qu'il soit dégradé ou subisse un double épissage pour donner naissance à une famille d'ARNm qui codent pour des protéines de régulation; deux sont essentielles à la transactivation de l'expression du génome viral: Tat qui va promouvoir l'augmentation du taux de transcrits primaires et Rev qui va entraîner le basculement de l'expression de ce génome vers la production des protéines du virion, produits des gènes *gag*, *pol* et *env*. Ce changement radical d'expression est la conséquence de l'arrivée de Rev

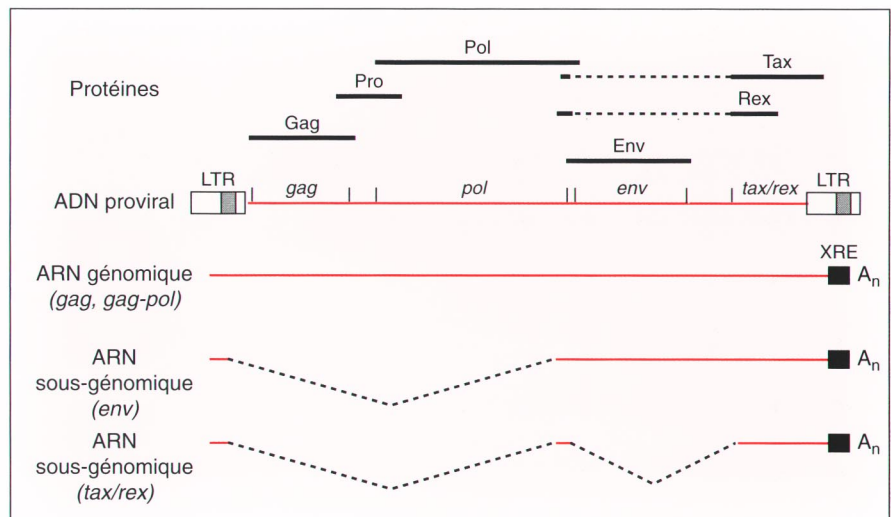


Figure 1. **Structure du génome de VIH-1 avec localisation des séquences qui codent pour les différentes protéines et structure des deux types principaux d'ARNm obtenus après maturation du transcrit primaire.** L'ADN proviral possède les séquences qui codent pour toutes les protéines entre les deux LTR, 5' et 3', constitués des trois séquences, de gauche à droite, U3-R-U5. Les protéines dites de régulation de l'expression du génome viral, en particulier Tat et Rev, sont codées par une famille d'ARNm épissés deux fois qui ne contiennent pas le RRE (Rev responsive element, boîte noire sur l'ARN). Les glycoprotéines de l'enveloppe du virion sont codées par un ARNm épissé une fois qui présente le RRE à l'intérieur de la séquence codante. Les autres protéines, produits des séquences *gag* et *pol*, sont synthétisées à partir du transcrit primaire, identique à l'ARN génomique, qui porte également le RRE. La séquence TAR (pour Trans-activation response), présente en 5' de tous les ARN, représente le site d'action de la protéine Tat.

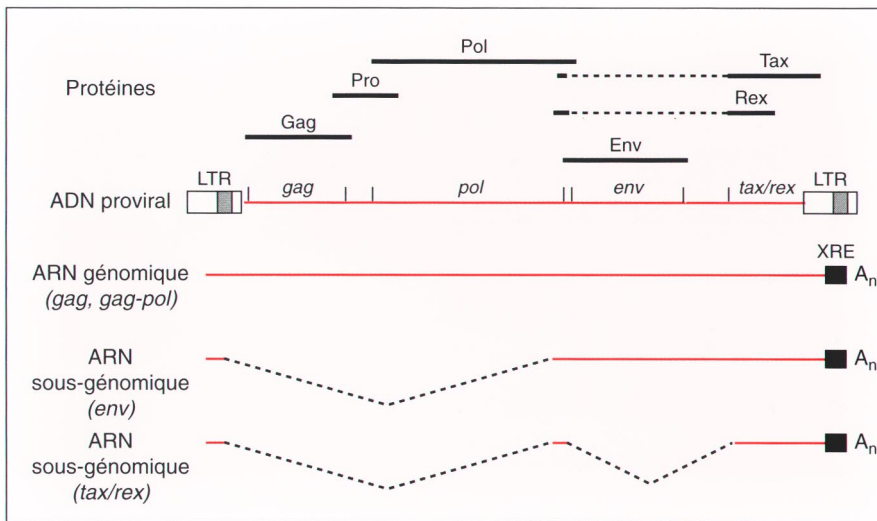


Figure 2. **Structure du génome de HTLV-I avec localisation des séquences qui codent pour les principales protéines et structure des deux types d'ARNm obtenus après maturation du transcrit primaire.** L'ADN proviral présente les séquences qui codent pour toutes les protéines entre les deux LTR 5' et 3', constituées des trois séquences, de gauche à droite, U3-R-U5. Les protéines dites de régulation de l'expression du génome viral, en particulier Rex et Tax, sont codées par un ARNm épissé deux fois. Les glycoprotéines de l'enveloppe du virion sont codées par un ARNm épissé une fois. Les autres protéines, produits des séquences gag et pol, sont synthétisées à partir du transcrit primaire, identique à l'ARN génomique. La séquence XRE (Rex responsive element, boîte noire), codée par la séquence R de la LTR située en 3' est, de ce fait, présente en 3' de tous les ARN de HTLV-I. Pour une représentation exhaustive de la structure de HTLV-I voir [3].

dans le noyau et de son interaction avec une partie de l'ARN, appelée RRE pour *Rev responsive element*. Ce RRE est situé dans le deuxième intron, support de l'essentiel de la séquence qui code pour les glycoprotéines de l'enveloppe rétrovirale. Cette première interaction va conduire à l'oligomérisation de Rev puis au transport nucléo-cytoplasmique des ARNm épissés une fois et des ARNm non épissés qui codent respectivement pour les glycoprotéines de l'enveloppe et pour les protéines Gag et Pol. Le RRE est éliminé des ARNm épissés deux fois et n'est donc présent que dans les ARNm épissés une fois et les ARN non épissés. Ce plan d'expression du génome s'applique à tous les rétrovirus qui présentent des protéines apparentées à Rev. Il en est ainsi de VIH-2 et des autres lentivirus et aussi des deux autres rétrovirus humains HTLV-I et HTLV-II (*human T cell leukemia virus*). Dans le cas de HTLV-I (figure 2), la

protéine Rex qui est l'homologue de Rev, exerce son action *via* une séquence d'ARN située dans la région 3' non traduite de tous les ARNm issus de la transcription de la LTR 3' de l'ADN proviral. Cette séquence particulière est appelée XRE ou RxRE pour *Rex responsive element*. Ici, le même ARNm épissé deux fois, code pour deux protéines régulatrices, Rex et Tax qui présentent la particularité d'être synthétisées à partir de deux codons AUG déphasés et de séquences codantes partiellement chevauchantes [2, 3]. Rex et Rev servent donc de médiateur au transport nucléo-cytoplasmique d'ARNm particuliers. Elles sont constituées de plusieurs domaines fonctionnels dont deux essentiels et distincts; l'un permet l'interaction avec un segment d'ARN spécifique; l'autre, appelé domaine d'activation, porte une courte séquence d'acides aminés hydrophobes susceptibles d'interagir avec

un cofacteur cellulaire qui serait impliqué dans l'envoi vers les pores nucléaires. La route alors suivie pour quitter le noyau serait probablement différente de celle des autres ARNm, en particulier cellulaires [4]. Enfin, les domaines d'activation de Rev et de Rex sont interchangeable et Rex est même capable de transactiver l'expression d'un provirus VIH-1 rendu inapte à synthétiser Rev [5, 6]. L'inverse n'est toutefois pas vrai. Jusqu'ici, aucun autre exemple de protéine capable d'exercer des fonctions du type de celles des protéines Rev et Rex n'avait été décrit. Cependant, il existe chez le virus de l'herpès simplex de type 1 (HSV-1), une protéine qui partage avec Rev et Rex certaines caractéristiques susceptibles d'évoquer des fonctions analogues. En effet, comme Rev et Rex, le produit du gène très tardif Us11 de HSV-1, est une protéine basique, phosphorylée, qui peut s'oligomériser et se lier à un fragment d'ARN situé dans la partie de l'ARNm qui code pour la protéine UL 34 de HSV-1. Us11 présente, en outre, tout comme Rev et Rex, une localisation préférentielle nucléolaire, bien que non exclusive, puisqu'on la retrouve également dans le cytosol. Enfin, cette protéine Us11 est apportée dans la cellule au moment de l'infection, à raison d'environ 1 000 copies par particule virale [6]. Elle est retrouvée ensuite dans le noyau, puis dans le cytosol où elle peut être mise en évidence sous forme d'oligomères, associée aux culots de sédimentation qui contiennent les ribosomes après fractionnement cellulaire, avant même que soit exprimé le gène très tardif par lequel elle est codée [7, 8]. Toutes ces observations laissent supposer un rôle de Us11 dans le transport nucléo-cytoplasmique des ARNm [8], sans qu'il soit possible de préjuger de la nature exacte des messages transportés, cellulaires ou viraux avec, en particulier, celui de UL34 dont la fonction reste encore mystérieuse. Malgré toutes ces incertitudes quant au rôle de Us11 au cours de l'infection par HSV-1, il devenait possible d'émettre l'hypothèse que Us11 pouvait se substituer à Rev et à Rex dans le transport nucléo-cytoplasmique

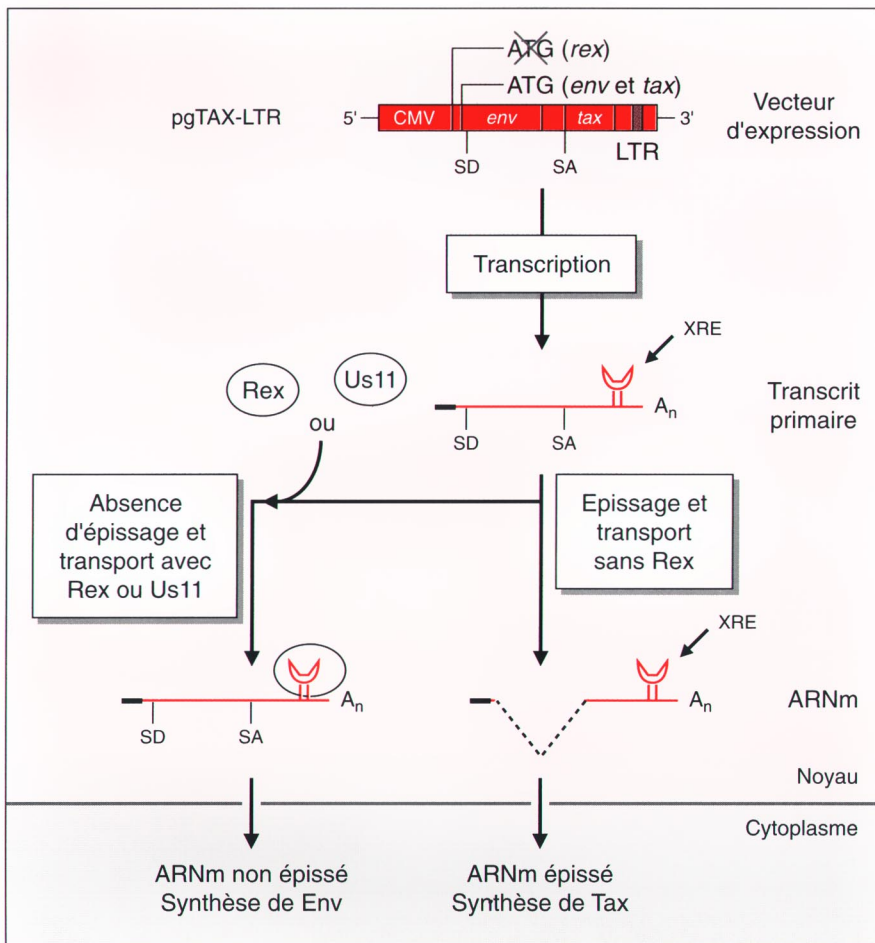


Figure 3. **Prototype de vecteur dérivé de HTLV-I conçu pour donner naissance à un transcrit primaire épissable et devenir des ARNm épissés ou non.** Le vecteur pgTAX-LTR [10] place sous la dépendance d'un promoteur du cytomégalo virus (CMV) la séquence qui code pour les glycoprotéines de l'enveloppe de HTLV-I et la LTR 3' qui contient la séquence qui code pour le XRE. Le codon AUG qui spécifie le début de la synthèse de Rex a été supprimé par destruction de la séquence ATG correspondante. L'ATG (env et tax) donnera naissance, soit à l'AUG du messenger de Tax si le transcrit primaire est épissé, soit à l'AUG du messenger de Env en l'absence d'épissage. Les sites donneur (SD) et accepteur (SA) d'épissage sont indiqués sur le transcrit primaire avec la position correspondante dans pgTAX-LTR. En l'absence de Rex et de Us11, le transcrit primaire est épissé puis l'ARNm qui en résulte est transporté dans le cytoplasme où il est traduit pour donner naissance à Tax [10]. En présence de Rex ou de Us11, le transcrit primaire est exporté sans épissage après interaction de Rex ou de Us11 avec le XRE. A partir de l'ARNm non épissé sont synthétisées les glycoprotéines de l'enveloppe rétrovirale.

des ARNm de VIH-1 et de HTLV-I [9]. Pour vérifier cette hypothèse, des vecteurs d'expression ont été construits pour permettre la synthèse de transcrits primaires non épissables qui codent pour les glycoprotéines d'enveloppe de VIH-1 et de

HTLV-I. La synthèse de glycoprotéines fonctionnelles a été évaluée par la numération des cellules multinucléées obtenues après co-transfection avec des vecteurs qui permettent la synthèse de Rev, Rex ou Us11. La formation de ces cellules multinu-

cléées est le témoin de la synthèse et de l'arrivée à la membrane plasmique de glycoprotéines fonctionnelles qui, dans les conditions adéquates de culture, vont conduire à la reconnaissance du récepteur de la cellule voisine et à la fusion des membranes plasmiques. Dans ces conditions, Rev est capable de transactiver l'expression des ARNm des glycoprotéines de VIH-1 mais pas celle des ARNm de HTLV-I, tandis que Rex permet la transactivation des ARNm des glycoprotéines de HTLV-I et, comme attendu et à un degré moindre, celle des ARNm de VIH-1 également. Us11, enfin, permet la transactivation des deux types d'ARNm avec autant d'efficacité que Rex pour ceux de VIH-1 mais, malgré tout, plus difficilement que Rev et que Rex pour, respectivement, les ARNm de VIH-1 et de HTLV-I.

L'objectif suivant a été de vérifier si Us11 permettait le transport nucléocytoplasmique des ARNm non épissés de VIH-1 et de HTLV-I, à partir de vecteurs conçus pour donner naissance à des transcrits primaires épissables (figure 3). Dans ces conditions, Us11 permet le transport nucléocytoplasmique de l'ARNm non épissé et la synthèse des glycoprotéines de l'enveloppe de HTLV-I mais pas de celui de l'ARNm qui code pour celles de l'enveloppe de VIH-1, dont la production n'est alors pas retrouvée. Dans cette dernière condition, en effet, le transcrit primaire est toujours retrouvé épissé, ce qui suggère que Us11 ne peut pas l'entraîner avant l'épissage. De même, Us11 s'est avéré incapable de transactiver l'expression d'un provirus VIH-1 rendu inapte à produire Rev, probablement pour les mêmes raisons.

Restait à déterminer comment Us11 pouvait se substituer à Rex et à Rev, au moins dans certaines conditions pour cette dernière, en particulier si Us11 était susceptible de se lier au RRE et au XRE. Tout d'abord, l'interaction directe de Us11 avec le RRE comme avec le XRE a été démontrée par la mise en évidence, par électrophorèse, des complexes RRE/Us11 et XRE/Us11 formés. Cela a été possible par synthèse *in vitro* du RRE et du XRE incubés ensuite avec une protéine Us11 elle-

même produite *in vitro* par génie génétique. Enfin, l'absence de transactivation de l'expression des ARNm des glycoprotéines de l'enveloppe de HTLV-I après excision du XRE confirme le rôle du XRE dans le transport nucléo-cytoplasmique des ARNm qui codent pour ces glycoprotéines rétrovirales.

La découverte d'une fonction analogue à celle de Rev et de Rex chez un virus qui n'appartient pas à la catégorie des rétrovirus complexes, soulève de nombreuses questions, d'abord sur le mode d'action précis de Us11 puis sur l'existence d'autres protéines du même type, virales mais aussi cellulaires qui devraient être impliquées dans le transport nucléo-cytoplasmique des ARNm et, enfin, sur la ou les routes particulières que peuvent suivre les ARNm dans des situations normales ou pathologiques. Au-delà de ces aspects purement fonctionnels, la question d'une coopération possible entre les rétrovirus et les virus de la famille herpès est à nouveau posée, cette fois-ci à travers une fonction de régulation post-transcriptionnelle de l'expression génique ■

**Jean-Jacques Diaz**  
**Madeleine Duc Dodon**  
**Nathalie Schaerer-Uthurralt**  
**Denis Simonin**  
**Karine Kindbeiter**  
**Louis Gazzolo**  
**Jean-Jacques Madjar**

*Immuno-virologie moléculaire et cellulaire, Université Claude-Bernard, Lyon-1/Cnrs UMR 5537, Faculté de Médecine Lyon-RTH, Laënnec, rue Guillaume-Paradin, 69372 Lyon Cedex 08, France.*

#### TIRÉS À PART

J.J. Madjar.

#### RÉFÉRENCES

1. Izaurralde E, Mattaj W. RNA export. *Cell* 1995; 81: 153-9.
2. Cullen BR. Human retroviruses. New York: Cullen BR, 1993: 1.
3. Koralknik IJ, Gessain A. Virus HTLV-I: structure et fonction des protéines de la région pX. *médecine/sciences* 1994; 10: 296-305.
4. Gerace L. Nuclear export signals and the fast track to the cytoplasm. *Cell* 1995; 82: 341-4.
5. Rimsky L, Hauber J, Dukovich M, Malim MH, Langlois A, Cullen BR, Greene WC. Functional replacement of the HIV-1 Rev protein by the HTLV-1 Rex protein. *Nature* 1988; 335: 738-40.
6. Roller RJ, Roizman B. Herpes simplex Virus 1 RNA-binding protein Us11 negatively regulates the accumulation of a truncated viral mRNA. *J Virol* 1991; 65: 5873-9.
7. Massé T, Garcin D, Jacquemont B, Madjar JJ. Ribosome and protein synthesis modifications after infection of human epidermoid carcinoma cells with herpes simplex virus type 1. *Mol Gen Genet* 1990; 220: 1-12.
8. Diaz JJ, Simonin D, Massé T, Deviller P, Kindbeiter K, Denoroy L, Madjar JJ. The herpes simplex virus type 1 US11 gene product is a phosphorylated protein found to be non-specifically associated with both ribosomal subunits. *J Gen Virol* 1993; 74: 397-406.
9. Diaz JJ, Duc Dodon M, Schaerer-Uthurralt N, Simonin D, Kindbeiter K, Gazzolo L, Madjar JJ. Post-transcriptional transactivation of human retroviral envelope glycoprotein expression by herpes simplex virus Us11 protein. *Nature* 1996; 379: 273-7.
10. Rimsky L, Duc Dodon M, Dixon EP, Green WC. Trans-dominant inactivation of HTLV-I and HIV-1 gene expression by mutation of the HTLV-I Rex transactivator. *Nature* 1989; 341: 453-6.