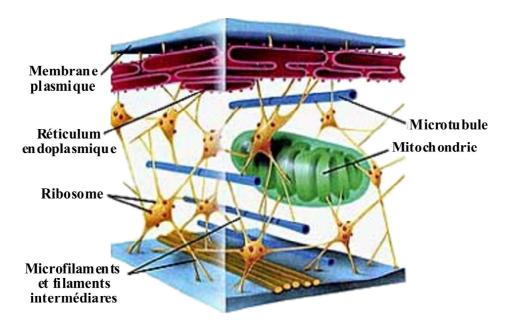


CYTOSQUELETTE: TRANSPORT VIRAL et ALTERATIONS VIRO-INDUITES

d'après le cours de Pierre-Emmanuel CECCALDI, Unité de la Rage, Institut Pasteur.

INTRODUCTION

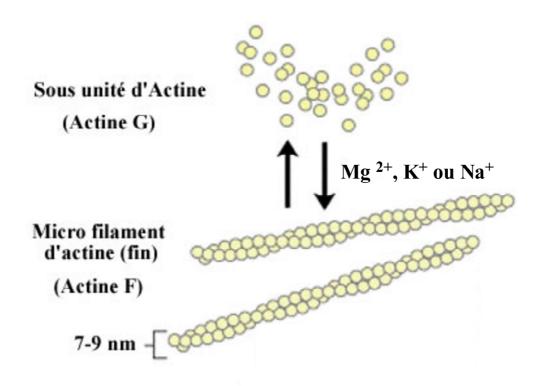
Le cytosquelette est un réseau complexe de filaments protéiques s'étendant dans tout le cytoplasme, et organisant celui-ci, permettant aux cellules eucaryotes de s'adapter à une grande variété de changements morphologiques, d'effectuer des mouvements coordonnés. Le cytosquelette est constitué de trois types de filaments protéiques: les **microfilaments d'actine** (7 à 9 nm de diamètre), les **microtubules** (25 nm de diamètre) et les **filaments intermédiaires** (10 nm de diamètre). Après quelques rappels sur ces structures, nous verrons dans ce cours le rôle des différents éléments du cytosquelette dans le cycle viral, plus spécialement dans les phénomènes de transport viral, avant d'envisager différents exemples d'altération du cytosquelette observés lors de l'infection d'une cellule par un virus.



LES MICROFILAMENTS D'ACTINE

L'actine est la protéine intracellulaire prépondérante dans la cellule eucaryote, et représente, selon les types cellulaires, de 1 à 10% de la quantité totale des protéines cellulaires, pour une concentration dans le cytosol de l'ordre du millimolaire. Cette protéine de taille moyenne (375 acides aminés) se présente dans la cellule soit sous forme de monomère globulaire (actine G) soit sous forme de polymère (actine F). Le microfilament d'actine F, d'un diamètre de 7 à 9 nm, est une structure polaire, avec une extrémité à croissance rapide (appelée "+") et une extrémité à croissance lente ("-"). La polymérisation de l'actine G en

micro filaments d'actine F est amorcée par l'ajout d'ions Mg2+, K + ou Na+, selon un processus réversible, l'actine F se dépolymérisant quand on abaisse la force ionique de la solution. Dans la cellule, il existe un équilibre dynamique entre la forme monomérique (G) d'actine et la forme filamenteuse (F), le passage de l'actine G à l'actine F étant régulé par des protéines associées à l'actine, en réponse à différents stimuli.

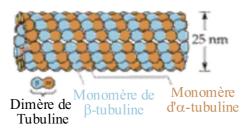


Le réseau d'actine est localisé d'une part juste sous la membrane plasmique, où il constitue un maillage bi-dimensionnel associé à la membrane, et au sein de la cellule, où il constitue un réseau tri-dimensionnel conférant un aspect gélatineux au cytosol. De nombreuses protéines interagissant avec l'actine ont été identifiées: elles sont impliquées dans des fonctions aussi diverses que la consolidation des filaments (ex: tropomyosine), la formation de faisceaux de filaments ou "bundles" (ex: fimbrine), la fragmentation des filaments (ex: gelsoline), le mouvement des vésicules sur les filaments (ex: myosine II) ou encore l'ancrage des filaments à la membrane plasmique (ex: spectrine). Tous ces jeux de protéines liant l'actine peuvent agir de façon coopérative pour engendrer les mouvements de la surface cellulaire, la phagocytose et la locomotion cellulaire.

LES MICROTUBULES

Les microtubules sont des tubes creux, de 24 nm de diamètre, constitués de 13 protofilaments de tubuline, chaque molécule de tubuline étant un hétérodimère d'α et de β-tubuline.

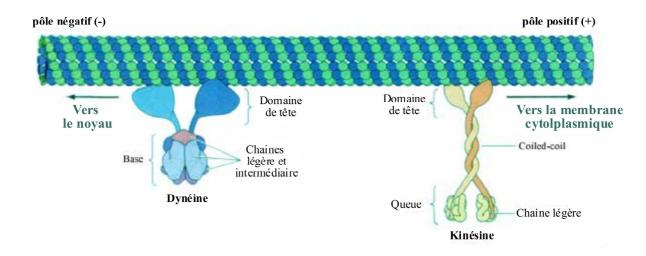
Microtubule



Dans les cellules animales, les microtubules se dépolymérisent et se repolymérisent continuellement, constituant un réseau dynamique (énergie fournie par le GTP) polarisé qui irradie du centrosome vers la périphérie.

Comme dans le cas de l'actine, des protéines peuvent, selon les types cellulaires, exercer une stabilisation des microtubules. Ces protéines, appelées MAP ("Microtubule Associated Protein"), sont capables de stabiliser les microtubules en des localisations précises du cytoplasme; ainsi, dans les neurones, la protéine MAP2 est présente dans les dendrites et le corps cellulaire, mais absente de l'axone, où sont trouvées certaines formes de protéine Tau, suggérant un rôle des MAPs dans la compartimentation cytoplasmique et l'orientation sélective des microtubules.

Le réseau microtubulaire intervient particulièrement dans la mobilité intra- et extra-cellulaire, dans la morphologie et la division cellulaire par deux mécanismes distincts: d'une part l'assemblage et le désassemblage des microtubules permettent la migration d'un "cargo" lié à l'une des extrémités; d'autre part, les microtubules peuvent constituer de véritables rails, sur lesquels des moteurs moléculaires, ayant lié un cargo, peuvent se déplacer.



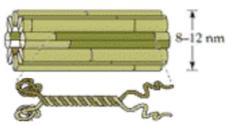
Ainsi des molécules de la famille des kinésines permettent le transport du pôle négatif au pôle positif du microtubule (transport antérograde, c'est-à-dire du centre de la cellule vers la périphérie), tandis que la dynéine permet un transport du pôle positif vers le pôle négatif (transport rétrograde, c'est-à-dire de la périphérie vers le centre cellulaire).

LES FILAMENTS INTERMEDIAIRES

Ce sont des fibres de 10 nm de diamètre, réparties dans la cellule selon une distribution

similaire à celle des microtubules, c'est-à-dire concentrés autour du noyau et irradiant vers la périphérie de la cellule.

Filaments intermédiaires



Sous unité fibreuse

Les filaments intermédiaires sont regroupés selon 5 classes de protéines: kératines de type acide, kératines de type basique, vimentine et apparentés (ex : desmine, glial fibrillary acidic protein..), neurofilaments et lamines (dans le noyau). A l'inverse des microfilaments d'actine et des microtubules, les filaments intermédiaires ne présentent pas de polarité, et donc n'interviennent pas dans le transport directionnel. Ils interviennent surtout dans le maintien de la morphologie cellulaire, dans la résistance aux stress mécaniques et dans le maintien d'une cohésion entre les cellules (ex: épithélium) via l'ancrage aux desmosomes et plaques d'adhérence.

ROLE DU CYTOSQUELETTE DANS LE TRANSPORT VIRAL

De la périphérie vers le centre de la cellule : transport rétrograde

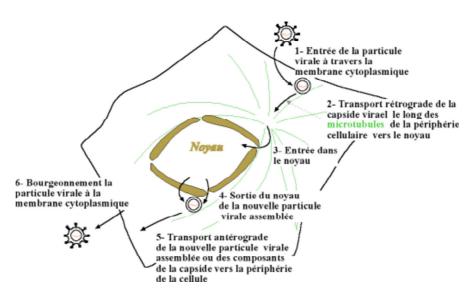
Les virus pénètrent dans la cellule par fusion de leur enveloppe virale avec la membrane plasmique ou, dans le cas d'endocytose récepteur-dépendante, par libération de la capside virale à partir de l'endosome. Pour beaucoup de virus, les étapes précoces de transport impliquent le réseau d'actine (ex: vaccine, VIH). Mais le transport vers le centre cellulaire (et pour nombre de virus, vers le noyau) implique l'utilisation du réseau microtubulaire. De nombreux virus utilisent dans ce cadre un transport rétrograde le long des microtubules, impliquant la dynéine cytoplasmique. Ceci a pu être démontré initialement pour le virus herpes simplex 1 (HSV -1), notamment par des expériences de dépolymérisation de microtubules, de co-localisation en immunocytochimie ou de vidéo-microscopie. Sur un modèle d'axone géant de calmar, Bearer et al. ont pu évaluer la vitesse d'un tel transport, 2.2 mm/sec., ce qui est compatible avec le transport rétrograde médié par la dynéine. Différentes approches ont montré l'implication des protéines du tégument du virus dans l'interaction avec la dynéine. Ces données ont été confortées par la découverte, pour d'autres virus, de protéines virales capables d'interagir avec une sous-unité de la dynéine, comme par exemple l'interaction de la phosphoprotéine du virus rabique avec la sous-unité LC8 de la dynéine (Jacob et al., 2000). La sous-unité LC8 de la dynéine est également impliquée dans le transport du virus ASFV (African Swine Fever Virus) (Alonso et al., 2001).

Du centre de la cellule vers la périphérie : transport antérograde

Ce type de transport est requis pour la libération des virions néo-formés. Il n'est pas indispensable dans le cas de virus libérés par lyse cellulaire. En revanche, dans le cas de bourgeonnement viral à la membrane plasmique, le réseau microtubulaire sera utilisé, par

l'intermédiaire de moteurs du transport antérograde de la famille des kinésines. Ainsi, il a été démontré que le virus HSV -1 utilisait le réseau microtubulaire dans les stades tardifs de l'infection pour sa libération à la périphérie du neurone (Miranda-Saskena, 2000). De même, le rétrovirus MuL V (Murine Leukemia Virus), est capable, par l'intermédiaire de la protéine structurale de capside Gag, de se lier à un moteur de type kinésine (KIF4) pour être acheminé du centrosome vers la périphérie (Kim et al., 1998). Ce rôle de la protéine Gag a également été démontré pour les virus HIV et SIV, pour un transport le long des microtubules, avant de faire intervenir le réseau d'actine au voisinage de la membrane plasmique pour permettre le bourgeonnement. Dans un tel contexte, le transport dépendant des microtubules concernerait plutôt le transport sur de longues distances dans la cellule, tandis que le réseau d'actine interviendrait dans les transports sur de courtes distances, notamment en ce qui concerne les phases de bourgeonnement viral. Un cas singulier est cependant fourni par le virus de la vaccine, qui est capable d'être propulsé par de véritables "comètes" d'actine, en utilisant la polymérisation de cette dernière (Wolffe et al., 1997), à l'instar de ce qui a été observé pour des bactéries intra-cellulaires telle Listeria ou Shigella, mais pourrait également utiliser le réseau microtubulaire pour être transporté vers la périphérie (Hollinshead et al., 2001).

Pour résumer :



Représentation schématique des différentes étapes du transport viral intra-cellulaire

ALTERATIONS VIRO-INDUITES DU CYTOSQUELETTE

Outre les effets du cytosquelette dans le cycle viral, notamment dans le transport viral, l'infection d'une cellule par un virus peut se traduire par une altération du cytosquelette. Quelques exemples de telles altérations sont:

Altérations du cytosquelette d'actine

Des cellules de neuroblastome d'origine murine infectées par le virus rabique montrent une baisse de marquage de l'actine F (marquage à la phalloïdine couplée à la rhodamine). Ces modifications ne sont pas dues à une action directe sur la polymérisation de l'actine G en actine F (spectroscopie de fluorescence) mais à une action de la nucléocapside rabique sur le compactage des fibres d'actines en faisceaux (bundles) par des molécules neuronales telle la synapsine 1 (vidéo-microscopie) (Ceccaldi et al., 1997).

Un autre exemple d'altération du réseau d'actine concerne une action directe de l'infection sur la polymérisation de l'actine: l'infection par le cytomégalovirus est capable de désorganiser le cytosquelette d'actine par dépolymérisation des microfilaments d'actine (Jones, 1986). Altérations du réseau microtubulaire.

Les microtubules sont une cible pour de nombreux virus; un des exemples les mieux étudiés est l'infection par le virus de la vaccine. Ce dernier est capable d'altérer les fonctions du centrosome, provoquant une réorganisation du réseau microtubulaire (Ploubidou et al., 2000).

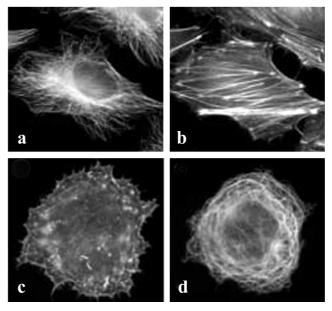


Image en microscopie à fluorescence (Ploubidou & Way, 2001)

- a- Microtubule de cellules non infectées
- b- Actine de cellules non infectées
- c- Microtubule de cellules infectées par le virus de la Vaccine
- d- Actine de cellules infectées par le virus de la vaccine

Altérations des filaments intermédiaires

L'infection de cellules en culture par le virus simien SV 40 provoque, au bout de 36 à 48 heures, une baisse dramatique de la synthèse de vimentine, en parallèle avec une désorganisation du réseau des filaments intermédiaires (Ben-Ze'ev, 1984), sans altération du réseau de microtubules et d'actine.

BIBLIOGRAPHIE:

Revues récentes sur les interactions virus-cytosquelette :

Ploubidou & Way, « Viral transport and the cytoskeleton»; CurT. Opin. Cell Biol., 2001; 13: 97-105

Lecellier et al., « Le cytosquelette et les virus, ou comment se déplacer dans une cellule » ; Virologie (janvier 2002).

Transport viral:

Alonso et al., J. Virol., 2001, 75, 9819-9827 Bearer et al., Proc. Nat! Acad. Sci. USA, 2000, 97, 8146-8150 Hollinshead et al., J. Cell Biol., 2001, 154, 389-402 Jacob et al., J. Virol., 2000, 74, 10217-10222 Kim et al., J. Virol., 1998, 72, 6898-6901 Miranda-Saksena et al., J. Virol., 2000, 74, 1827-1839 Wolffe et al., J. Virol., 1997,71,3904-3915

Altérations viro-induites du cytosquelette: Ben-Ze'ev, Mol. Cell. Biol., 1984, 4 Ceccaldi et al., J. Gen. Virol., 1997,78,2831-2835 Jones et al., Eur. J. Cell Biol., 1986,41,304-312 Ploubidou et al., EMBO J., 2000, 19, 3932-3944