

LA MULTIPLICATION DES VIRUS

1° - Principe de la multiplication des virus

À l'extérieur de la cellule, **les virions** sont la forme de **dissémination passive** du virus : ils en représentent l'état inerte et statique.

Parasites intracellulaires **stricts**, les virus ne se multiplient qu'à l'intérieur de cellules vivantes.

La multiplication des virus dépend de la réplication de leur génome :

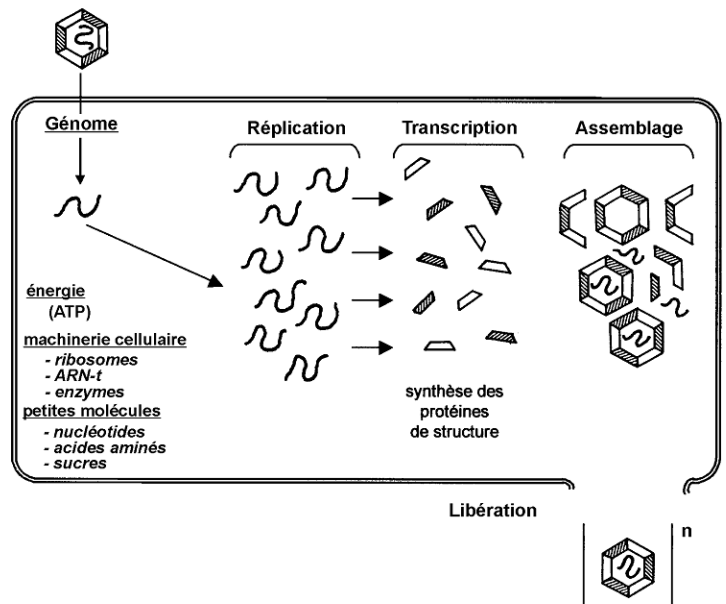
La capacité de **réplication autonome** des acides nucléiques viraux les différencie fondamentalement des acides nucléiques cellulaires.

Comment un virus poliomyélitique peut-il se fait reproduire par une cellule-hôte à 100 000 exemplaires en 8 heures ?

Véritable agent de subversion, le virus réquisitionne – par des moyens variés – la machinerie cellulaire et ses matières premières pour sa reproduction.

Le schéma résume la stratégie utilisée par tous les virus :

1. d'abord, **multiplier l'information génétique** par sa réplication,
2. puis, ensuite, **exprimer l'information génétique** ainsi multipliée (transcription en ARN-messagers et traduction) pour une synthèse MASSIVE des **protéines de structure** : protéines de capsid, d'enveloppe, enzymes et protéines du core.
3. assembler enfin génomes, capsides et enveloppes.



2° - Le cycle de multiplication

Quel que soit le virus, le cycle de multiplication – dans ses grandes lignes – s'effectue en **six étapes** :

1	fixation
2	pénétration
3	décapsidation
4	expression du génome → enzymes
	réplication du génome
	expression des nouveaux génomes : → protéines de structure
5	assemblage des nucléocapsides
6	libération des nouveaux virions

cette période du cycle correspond aux synthèses, on l'appelle **la phase d'éclipse** car le virus semble avoir disparu : au cours de cette phase, il est impossible d'isoler un **virion**.

Les interactions virus - cellules

La multiplication d'un virus dépend de la réplication de son génome. L'expression du génome viral dans la cellule-hôte définit **quatre types d'interactions virus ↔ cellules** :

- l'infection productive,
- l'infection persistante productive,
- l'infection latente,
- l'infection abortive,
- la transformation cellulaire.

1° - l'infection productive : l'infection lytique

Il correspond au **cycle de multiplication** complet : la cellule libère de nouveaux virions :

- la cellule dans laquelle le virus se multiplie est **une cellule permissive**.
- le virus est un virus cytotocique : sa multiplication entraîne la mort de la cellule infectée : l'infection est **lytique**.

Outre les récepteurs qui ont permis l'infection, des **facteurs cellulaires**, qui participent à certaines étapes du cycle viral, sont présents.

2° - l'infection persistante productive

Bien qu'infectée par le virus, la cellule continue à se multiplier normalement tout en produisant des particules virales. Le virus n'est pas cytotocique et sa production est continue. Un mécanisme de régulation empêche l'extension des synthèses virales dans la cellule.

3° - l'infection latente

Le génome pénètre dans le noyau de la cellule sans s'exprimer complètement. Dans certaines conditions il pourra engager un cycle productif.

4° - l'infection abortive

Le génome viral a pénétré dans la cellule mais ne peut pas s'exprimer normalement : la cellule hôte ne permet pas l'accomplissement complet du cycle viral.

→ les cellules sont **des cellules non permissives**.

5° - la transformation cellulaire

Le génome viral persiste, soit libre, soit intégré au sein de l'ADN de la cellule-hôte.

l'expression de certains gènes viraux oncogènes¹ (**v-onc**) donne aux cellules des propriétés de croissance et d'immortalité analogues à celles des cellules cancéreuses

Le génome viral – sans *v-onc* – peut aussi s'intégrer à proximité d'un gène cellulaire (**c-onc**) et l'activer.

Un virus peut être **lytique** dans des cellules, et **oncogène** dans d'autres cellules où son génome persiste : c'est le cas des virus HBV, HPV et EBV.

Le premier oncogène viral, le gène **v-src**¹ du virus du sarcome de poulet (virus découvert par Rous en 1911) a été isolé en 1975, et son équivalent cellulaire, le proto-oncogène **c-src**, a été identifié dans le génome de cellule de poulet, puis dans le génome de tous les autres vertébrés, y compris l'homme, en 1978.

¹ src pour **sarcome**

¹ **oncogène** : gène codant une protéine capable d'induire la transformation cellulaire et une tumeur dans l'organisme. Un oncogène peut être d'origine cellulaire (proto-oncogène ou *c-onc*) ou virale (*v-onc*).

3° La culture des virus

1° - l'inoculation des animaux

n'a plus que des indications **limitées**.

2° - l'inoculation de l'œuf de poule embryonné

surtout utilisée pour les virus de la grippe :

- pour le **diagnostic précis** des souches en circulation,
- pour la préparation annuelle du **vaccin** antigrippal.

3° - les cultures cellulaires

Les cultures cellulaires sont utilisées dans **les laboratoires**, pour l'identification de certains virus, et dans **l'industrie pharmaceutique** pour la préparation des vaccins.

Trois types de cellules sont utilisées comme milieux de culture :

1. les cellules primaires

Leur nom vient de ce que ces cellules, provenant d'un organe prélevé extemporanément, sont cultivées pour la première fois. Elles sont de moins en moins utilisées, chaque culture nécessitant la mort d'un animal.

2. les cellules diploïdes

Ce sont des lignées issues de cultures primaires qui ont franchi le cap de plusieurs repiquages, et qui supportent **une cinquantaine de passages** tout en conservant les caractères de cellules normales (dont un caryotype normal).

Les premiers passages, congelés dans l'azote liquide où ils se conservent indéfiniment, sont une source quasi inépuisable de cellules.

3. les cellules de lignée continue

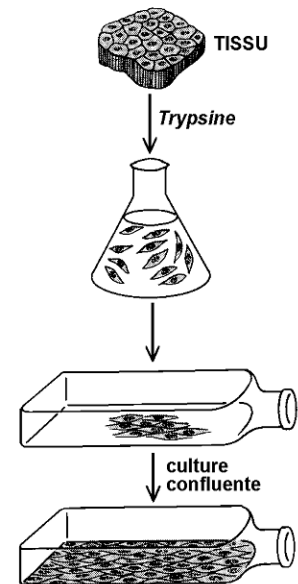
On peut isoler d'une culture de cellule des lignées capables de supporter un nombre **illimité** de passages. Elles ont pour origine :

- des tissus cancéreux** donc **tumorigènes** :
 - les cellules **Hela**, (**Helen Lane**) isolées en 1952 d'un carcinome du col utérin.
- des cellules "transformées" *in vivo*, mais **non tumorigènes** :
 - les **cellules Vero**, isolées d'une culture primaire de rein de singe vert (**Vervet origin**) très utilisées pour la préparation des vaccins.

4° - L'effet cytopathogène (ECP)

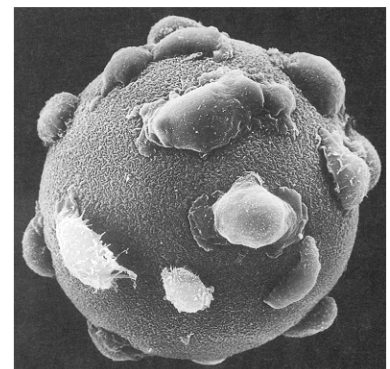
Dans une culture de cellules infectées, **les perturbations métaboliques**, induites par la présence du virus, conduisent à **des lésions visibles au microscope optique**, et qui sont souvent évocatrices du virus, c'est **l'effet cytopathogène** (ou **ECP**) :

- la nappe cellulaire est détruite,
- les cellules sont ballonnées ou au contraire rétractées,
- les cellules fusionnent, formant des nappes cytoplasmiques contenant de nombreux noyaux : **les syncytiums**,
- après coloration des cellules on peut aussi voir **des inclusions** dans le *noyau* ou dans le *cytoplasme*, selon l'endroit où le virus s'assemble (les corps de Negri dans les neurones infectés par le virus de la rage).



On cultive les cellules dans des boîtes de Roux, des boîtes de Petri en plastique et, dans l'industrie, sur des billes microporteuses

Le milieu contient de l'eau, des sels minéraux, des acides aminés, des vitamines, des facteurs de croissance (apportés par du sérum de veau) et des antibiotiques (pour prévenir les contaminations bactériennes).



une bille microporteuse et des cellules



Virus de la rage
corps de Negri dans le cytoplasme d'un neurone.

Les étapes du cycle de multiplication

1° - la fixation

La fixation des virions nécessite l'interaction entre un **ligand viral** et un **récepteur cellulaire**.

- **une** cellule possédant de **10.000 à 500.000 récepteurs**, peut donc être infectée *simultanément* par plus d'un virion...

Certains virus sont capables de se fixer à différents récepteurs. D'autres exigent **deux récepteurs** présents sur la même cellule (un **récepteur** et un **corécepteur**).

a / le récepteur cellulaire

La présence de **récepteurs cellulaires** définit le **spectre d'hôte**, c'est à dire la ou les espèces animales sensibles, de même que et le ou les tissus que le virus peut infecter.

Le spectre d'hôte peut être :

- **large** quand un virus utilise des récepteurs **ubiquitaires**, présents sur des cellules d'espèces animales différentes.
- **étroit** si les récepteurs sont propres à une seule espèce :
 - des virus **sont propres à l'espèce humaine** : les virus de la poliomyélite, le virus de la rougeole, de la rubéole, du sida...
 - le **virus de la rage** affecte **tous** les mammifères.
 - les **virus de la grippe** peuvent affecter à la fois l'homme, les oiseaux migrateurs, le porc et le cheval.
 - certains virus se développent **à la fois** chez un animal, un insecte vecteur et l'homme : **les arbovirus**.

Les récepteurs utilisés par les virus sont fréquemment des **molécules d'adhésion**, les CAM (Cell Adhesion Molecule). Mais la nature précise des récepteurs n'est pas encore toujours connue.

	virus	récepteur	fonction physiologique
①	<i>Coxsackievirus</i> <i>Adenovirus</i>	CAR ¹	inconnue
②	<i>Poliovirus</i>	PVR ²	inconnue
③	virus du sida (HIV)	CD4	adhésion au CMH de classe II
④	<i>Rhinovirus</i>	ICAM 1	molécule d'adhésion
⑤	virus d'Epstein Barr	CR2	récepteur de C3d
⑥	virus de la grippe	NANA ³	une partie des gangliosides membranaires

¹ Coxsackie-Adenovirus receptor

² Poliovirus récepteur

³ N-acétyl neuraminic acid

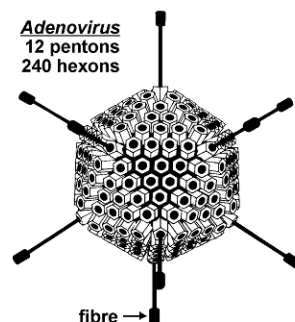
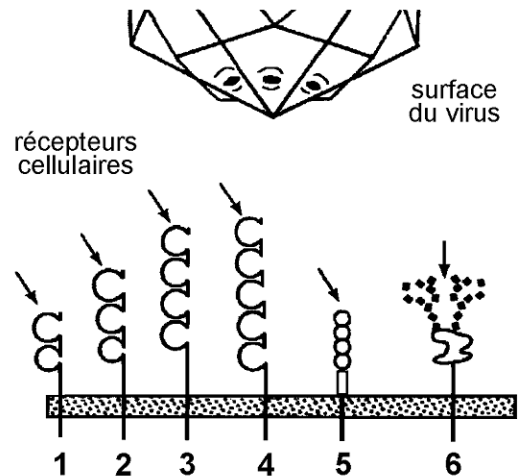
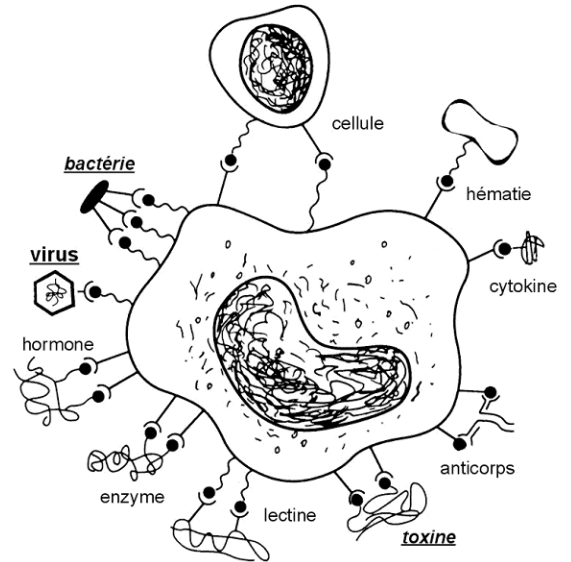
b - le ligand viral

- quand le virus est nu, c'est **une conformation** particulière des protéines de la capsid.

un premier ligand des *Adenovirus* correspond à l'**extrémité de la fibre** (les "antennes") qui se fixe au **récepteur CAR**, un second, la base du penton, se fixe à une **intégrine**.

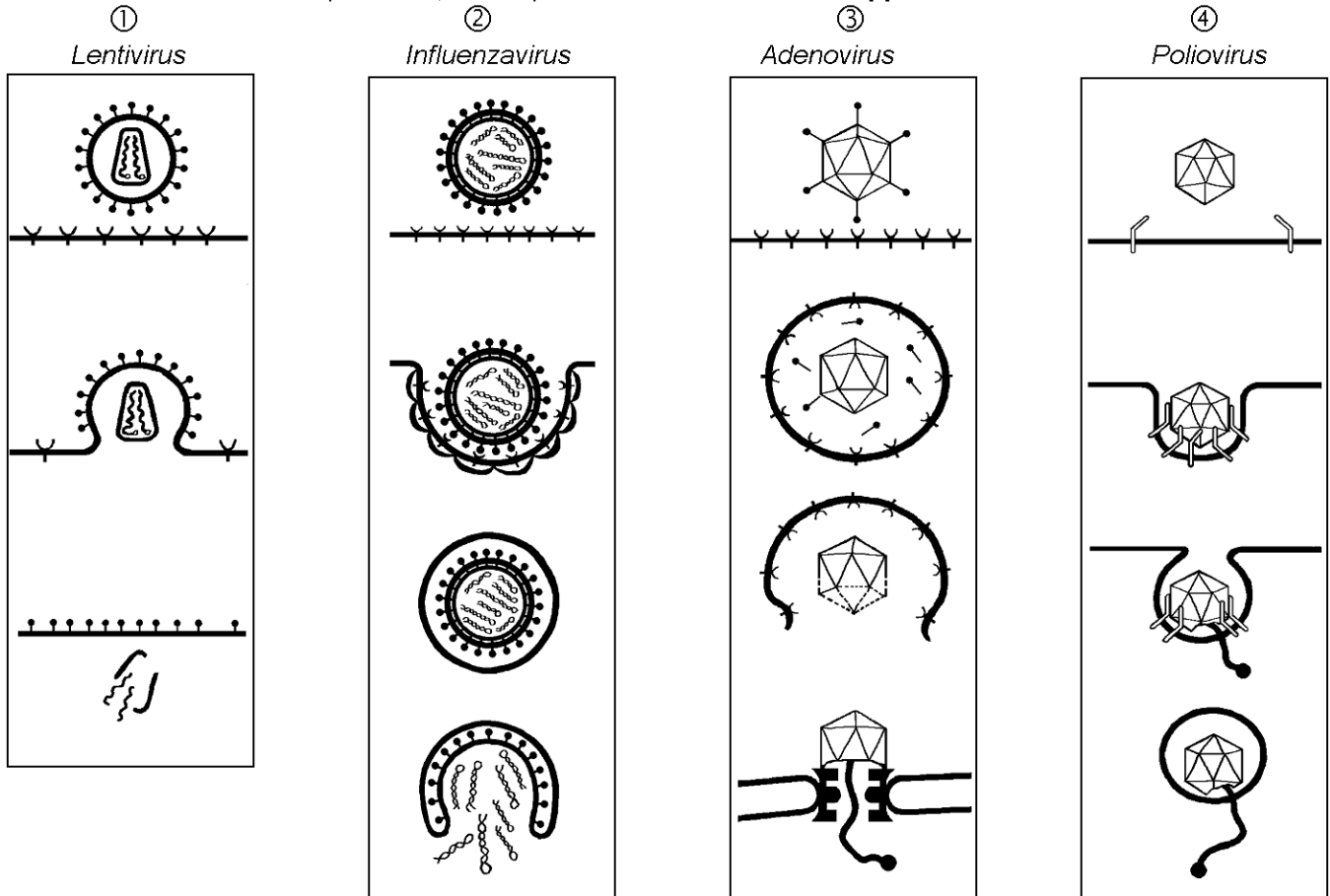
- quand le virus est enveloppé, ce sont **les spicules** de l'enveloppe.

Comme les bactéries ou les toxines, les virus utilisent des **récepteurs cellulaires** qui remplissent normalement des **fonctions physiologiques**.



2° - la pénétration

Plusieurs mécanismes sont possibles, selon que le virus est **nu** ou **enveloppé** :



① la fusion de l'enveloppe avec la membrane plasmique

Ce mécanisme est **propre aux virus enveloppés**, puisqu'il fait intervenir **les propriétés fusionnantes des spicules** : La fusion de l'enveloppe avec la membrane plasmique introduit la nucléocapside dans le cytoplasme.

→ *Paramyxovirus, Herpesvirus, HIV*

Certains virus, comme les virus du sida, utilisent successivement **deux récepteurs** :

le **récepteur** est la structure cellulaire d'attachement primaire, le **co-récepteur** est la structure cellulaire d'attachement secondaire, nécessaire pour l'étape de fusion.

② et ③ l'endocytose du virion : endocytose par récepteur interposé

La membrane cytoplasmique fournit un véhicule d'entrée.

Lorsqu'un ligand se fixe à son récepteur, il se fait endocyter au niveau de régions spécialisées de la membrane qui sont tapissées de clathrine (*clatare*, enfermer avec des barreaux).

② - **virus enveloppés** – Après l'endocytose, le réseau de clathrine se dissocie et la vésicule (pH ~ 7,2) fusionne avec un **endosome** dont la membrane est pourvue d'une pompe à H⁺. Les contenu devient **acide** (pH ~ 6), ce qui permet la séparation des ligands de leurs récepteurs, puis la fusion de l'enveloppe avec libération de la nucléocapside dans le cytoplasme.

③ - **virus nus** – La fixation du virus et l'acidification de la vésicule dissocient progressivement la capsid : certaines protéines virales peuvent alors induire la lyse de la membrane de l'endosome. Le "core" du virus se fixe près d'un pore nucléaire.

→ *Influenzavirus, Adenovirus*

④ la pénétration directe du génome par un pore membranaire

Le procédé est peu courant. Il est utilisé par des *Picornavirus* comme le virus poliomyélique :

- la fixation au récepteur cellulaire **déstabilise la capsid**, permettant l'insertion de certaines protéines virales hydrophobes qui forment un **canal**, soit dans la membrane cytoplasmique, soit dans la membrane d'un endosome.
- le **génom**e emprunte ce canal et **pénètre directement** dans le cytoplasme.

3° - la décapsidation

Pour s'exprimer, le génome viral doit être libéré de la capsid. Des **protéases cellulaires** ou **virales** interviennent au cours de cette étape, encore mal connue pour la plupart des virus.

Pour les *Reovirus*, la décapsidation est **partielle** : de la **double capsid**, seule la capsid externe est dissociée. Le génome reste dans la capsid et les ARN messagers passent dans le cytoplasme à travers des pores situés aux sommets du virion. s'échappe par des pores situés aux sommets du virion.

4° - le transport du génome vers le noyau

Cette étape est obligatoire pour la plupart des virus à ADN et certains virus à ARN dont le cycle comprend une étape nucléaire comme les virus de la grippe.

- ① une **MAP motrice**¹ liée aux microtubules du cytosquelette cellulaire, la **dynéine**, prend en charge la nucléocapsid et la transporte à proximité de la membrane nucléaire.
- ② si le génome est libéré dans le cytosol, il s'associe à des protéines cellulaires et/ou virales avant d'être pris en charge par la dynéine.

Au moins une des protéines possède un **signal de localisation nucléaire (SLN)** qui permet la fixation de **facteurs cellulaires** chargés d'assurer l'importation du complexe nucléoprotéique dans le noyau *via* un **pore nucléaire**.

La décapsidation achevée, il n'y a plus de virions, ils semblent s'être éclipseés... La phase d'éclipse commence...

4° l'éclipse

La phase d'éclipse correspond à la **multiplication virale**. Elle s'accompagne souvent d'une **inhibition** des fonctions cellulaires.

La multiplication se fait en **deux étapes** :

1. la **réplication du génome**
2. la **transcription des nouveaux génomes**.

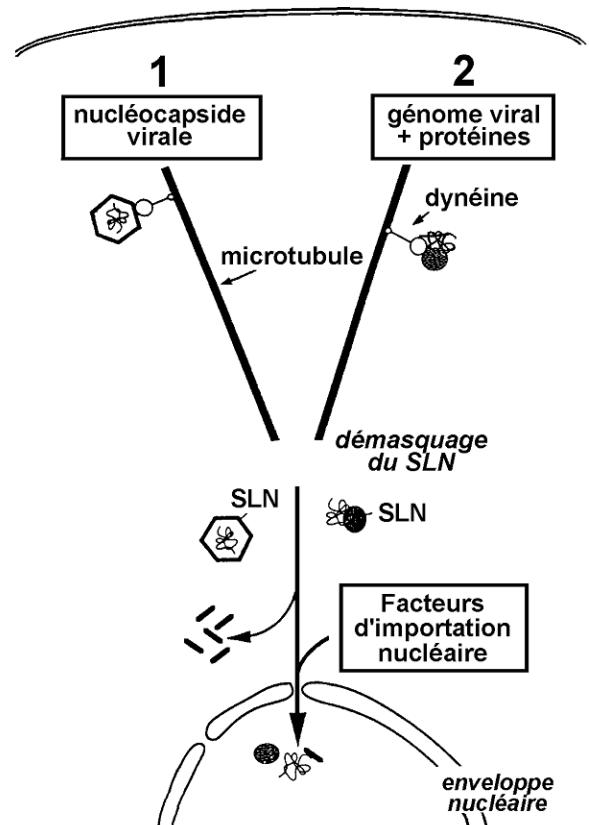
- les virus à ADN

- une **première transcription** conduit à la synthèse de protéines dites **précoces**, enzymes ou facteurs qui interviennent dans la **réplication du génome viral**.
- Le génome étant répliqué, la transcription de ces répliques conduit à la synthèse des **protéines tardives** c'est à dire les protéines de structure : protéines de capsid et d'enveloppe, enzymes emportés par le virion.

- les virus à ARN

Le processus diffère selon la nature de l'ARN génomique :

- **ARN +**, c'est un ARN messager et il est immédiatement traduit en protéines. Parmi ces protéines, une **réplicase** permettra la synthèse de l'ARN **complémentaire** (ARN-) qui servira de **matrice** pour la synthèse des nouveaux génomes. À partir de ces nouveaux génomes, les protéines de structure sont synthétisées.
- **ARN -**, il doit être préalablement transcrit en ARN messagers par une **transcriptase virale** associée au génome.



¹ **MAP motrice** : microtubule associated protein

- la circulation des protéines de structure

Une fois synthétisées, les protéines de structure sont acheminées vers les régions cellulaires – où les nouveaux virions sont assemblés – grâce à **des signaux d'adressage** (une sorte de code postal) :

• les protéines de capsid

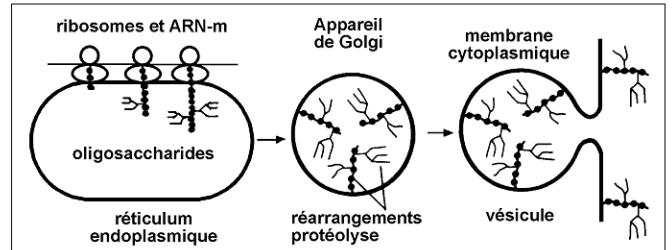
Les protéines de capsid rejoignent les génomes : **le noyau** pour les virus à ADN et quelques virus à ARN, **le cytoplasme** pour la plupart des virus à ARN et une famille de virus à ADN, les *Poxvirus*.

• les glycoprotéines d'enveloppe

Les protéines d'enveloppe sont synthétisées par les ribosomes liés au réticulum endoplasmique dans lequel elles s'**insèrent** (grâce à une séquence hydrophobe).

Les protéines sont **glycosylées**, puis transportées à l'appareil de Golgi. Certaines spicules y subissent un **clivage protéolytique** indispensable à leurs fonctions (virus de la grippe, HIV).

Une vésicule les achemine enfin vers une membrane cellulaire : la vésicule **fusionne** avec la membrane.



synthèse et transport des spicules viraux

• la protéine de matrice

se dépose sur la **face interne** de la membrane.

5°- l'assemblage

C'est la fin de la période d'éclipse commencée avec la décapsidation.

Les protéines de capsid s'assemblent autour des nouveaux génomes, ou forment **une procapsid** perméable à l'acide nucléique génomique.

L'**adressage des protéines** d'enveloppe et de matrice est **orienté** : soit vers le pôle apical, soit vers le pôle baso-latéral :

- la bordure apicale	<ul style="list-style-type: none"> • <i>Orthomyxovirus</i> • <i>Paramyxovirus</i>
- la bordure baso-latérale	<ul style="list-style-type: none"> • <i>Togavirus</i> • <i>Rhabdovirus</i> • <i>Lentivirus</i> (virus du sida)
- la membrane nucléaire	<ul style="list-style-type: none"> • <i>Herpesvirus</i>
- la lumière du réticulum endoplasmique	<ul style="list-style-type: none"> • <i>Coronavirus</i> • <i>Flavivirus</i>
- l'appareil de Golgi	<ul style="list-style-type: none"> • <i>Coronavirus</i> • <i>Bunyavirus</i>

6° - libération

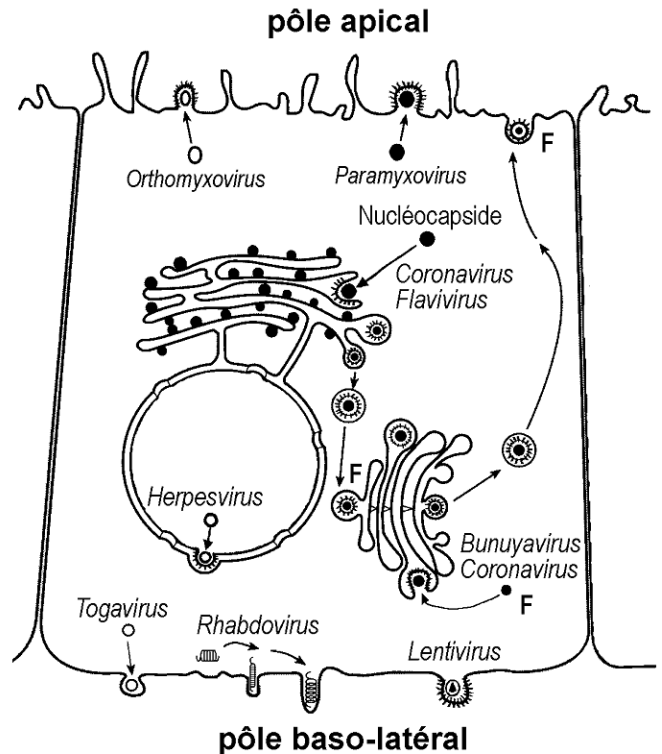
Les virions assemblés quittent la cellule selon deux modalités :

a/ la lyse de la cellule : les virus nus

La libération des virus nus dépend de la **lyse cellulaire**.

b/ le bourgeonnement : les virus enveloppés

Le bourgeonnement des virus enveloppés a lieu au niveau des membranes modifiées, ce qui implique des **interactions spécifiques** entre la nucléocapside et les protéines d'enveloppe (spicules ou protéines de matrice). La libération des virions se poursuit assez longtemps, avant que la cellule ne meure.



F : fusion de la vésicule de transport du virus, soit avec la membrane cytoplasmique, soit avec le réticulum endoplasmique, soit avec l'appareil de Golgi.

ADN et ARN de la cellule / virus à ADN et ARN

La cellule

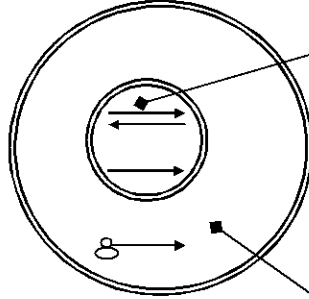
Les virus

dans le noyau, on trouve :

- ADN et ARN
- ADN-polymérase
- ARN-polymérase

dans le cytoplasme, on trouve :

- ARN messagers
- ribosomes



Virus à ADN :

En *général*, la réplication et l'assemblage des nucléocapsides se fait **dans le noyau**.

exception : les *Poxvirus*
le virus de l'hépatite B

Virus à ARN :

En *général* la réplication et l'assemblage des nucléocapsides se fait **dans le**

exception : les *Influenzavirus*