

VIROLOGIE

**VIRUS
ETUDES ET FAITS
PROPRIETES**

MEDICAMENTS, VACCINS ET PRÉVENTIONS

Faits historiques sur Virus et Retrovirus

Virus ou Poison (latin)

2000-1000 BC: Variole (ou petite vérole) se répand en Inde, Chine, Japon et Afrique (famille des Poxviridae)

1000 BC: utilisation de la Vaccine (Cowpox) par des médecins chinois pour essayer de protéger les enfants contre la variole.

1157 BC: le Pharaon RAMSES V meurt de la variole

323 BC: l'Empereur Alexandre le Grand meurt d'une infection virale à Babylone (WNV; virus du Nil; Flaviridae)

1517 AC: Cortes et ses soldats arrivent aux Amériques avec la Variole. Environ 3.5-5 M de morts dus à la variole en 2 ans.

1700-1717-1796: utilisation de la variolation pour tenter de protéger les personnes contre la variole dans l'Empire Ottoman; dès 1717 en Angleterre; 1796 la 'vaccination' par E Jenner.

1880-1900: les agents ultrafiltrables par L Pasteur et R Koch; le premier virus, le TMV (Tobamoviridae) par Ivanovski and W. Beijerinck.

➤**1900:** 2-3 enfants sur 5 meurent de la variole avant 5 ans .

1905-1911: Anémie chez les chevaux par L Carré (FR) et le virus EIAV; ALV chez les poulets par Ellerman & Bang (DAN); Rous sarcoma virus (RSV) par P Rous (USA) (par infections successives d'oiseaux).

1911-1915: découverte des bacteriophages (les 'dévoreurs de bactéries' by F d'Herelle; FR-Canada).

Au même moment importants DVPTs de l'industrie chimique et de la métallurgie

1914-1918: 1ère guerre mondiale et l'industrie de la destruction et de la mort.

1918: pandémie de grippe H1N1 (Orthomixoviridae) (40 M de morts en 8 mois; pneumopathies)

1928-1935: premières expériences sur des cellules; dvpts de la microscopie.

1939-1945: 2ème guerre mondiale, les camps, les destructions massives et les premières bombes atomiques.

1950-1970: découverte des virus oncogéniques chez les rongeurs, rats et souris AKR MLV par L Gross (DE);

MoMuLV par Moloney puis Rauscher, Harvey and Kirsten MLV (RaMLV, HaMSV & KiMSV).

1967: découverte des premiers viroïdes comme PSTV (potatoes) et CCCV (coconut trees)

1970-1980: les virus conduisent à la découverte des premiers oncogènes (Cancer) G Todaro (USA) (HaMSV et vRas).

L'hypothèse du provirus où des virus modifient naturellement le génome, par H Temin (USA).

L'enzyme transcriptase inverse (RT) par H Temin, H Mizutani et D Baltimore (USA);

et S Spiegelmann (USA) sur les premiers rétrovirus endogènes humains (HERV);

L'origine cellulaire des oncogènes (c-Ras, c-Src etc...) par H Varmus & M. Bishop (USA), et les débuts de l'oncologie moléculaire

La transfection d'ADN pour modifier à la demande le génome des cellules

La GUERRE FROIDE 1980....

JLD LR, 2010

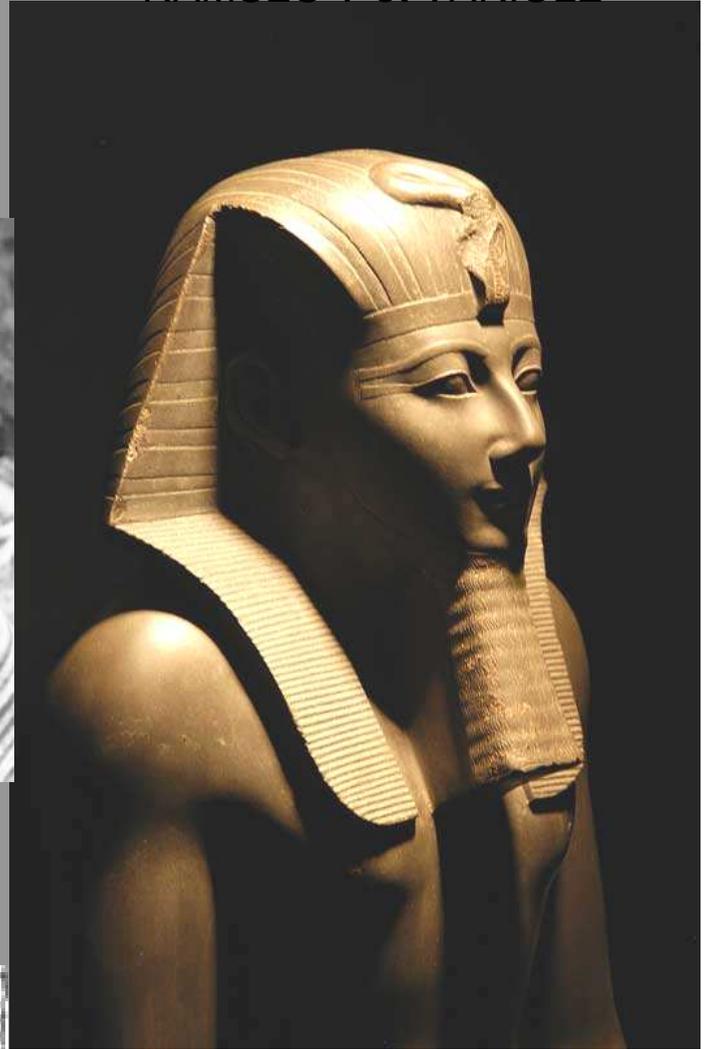
ALEXANDRE LE GRAND ET WNV



Egypte et PV



RAMSES V et VARIOLE





EDWARD JENNER



Anton van Leeuwenhoek



Werner Arber:

Nobel Laureate, Darwin Skeptic



J Watson & F Crick



David Baltimore



Howard Temin

DÉCOUVERTES RÉCENTES EN VIROLOGIE, ET LE SIDA

1980-1984: premier Rvirus humain causant une leucémie, HTLV par R. Gallo et al. (USA & Japon).
HIV-1 par L Montagnier, F Barré-Sinoussi et al. (FR; au début LAV).
Le HIV/SIDA s'étend en Europe, aux USA et Caraïbes, Afrique et maintenant en Chine et Inde. .
Séquençage rapide des ADN et ARN.
Premières séquences de virus (SV40; AKV, MoMuLV, RSV, ALV etc...)

1985-1989: premiers vecteurs de transgénèse et de thérapie génique (France , USA).
Preuves que le HIV est soumis à une forte variabilité génétique, comme la majorité des Rvirus et certains virus (Grippe) (France, USA, Germany, ND);
Découverte du rôle central de la NC dans la multiplication du HIV et d'autres Rvirus (FR; CH; USA)
Premiers traitements contre le SIDA-HIV (AZT, 3TC) (USA & Europe).
Premiers essais de thérapie génique (FR et USA).
De nombreux lentivirus découverts dans la nature (HIV-2, SIV, FIV, BIV etc...).
Découverte du virus de l'hépatite C (1985-1989; USA)

1990-2000 : premiers traitements très efficaces contre le HIV-SIDA (HAART) (USA, France);
Le génome de l'homme et de la souris contient une forte proportion de séquences virales et pseudo-virales répétées (40%)
Ces éléments génétiques, appelés rétroéléments, sont abondants dans tous les génomes eucaryotes.
Premiers vecteurs de transgénèse basés sur le HIV-1 (USA; UK)
Premiers succès de thérapie cellulaire en utilisant un vecteur Rétroviral de type MLV (A Fischer et al., yC; FR).

2000-...: nombreuses études sur les rapports entre le virus et son hôte; identification de facteurs naturels anti-HIV et de contre-facteurs viraux (APOBEC3G et Vif),
Les micro-ARNs et la réplication du HIV-1.
Les RV sont transmis directement de cellule-à-cellule par des filaments (filopodes)
Cas de leucémie dans les essais de thérapie cellulaire yC (FR)
Découverte du XMRV, proche des MLV des rongeurs, sans doute impliqué dans le cancer de la prostate
Fort DVPT de la technologie des vecteurs viraux, en particulier ceux issus des HIV et SIV
Premiers grands essais vaccinaux contre le HIV-1 (mais pas de protection...)

LES VIRUS

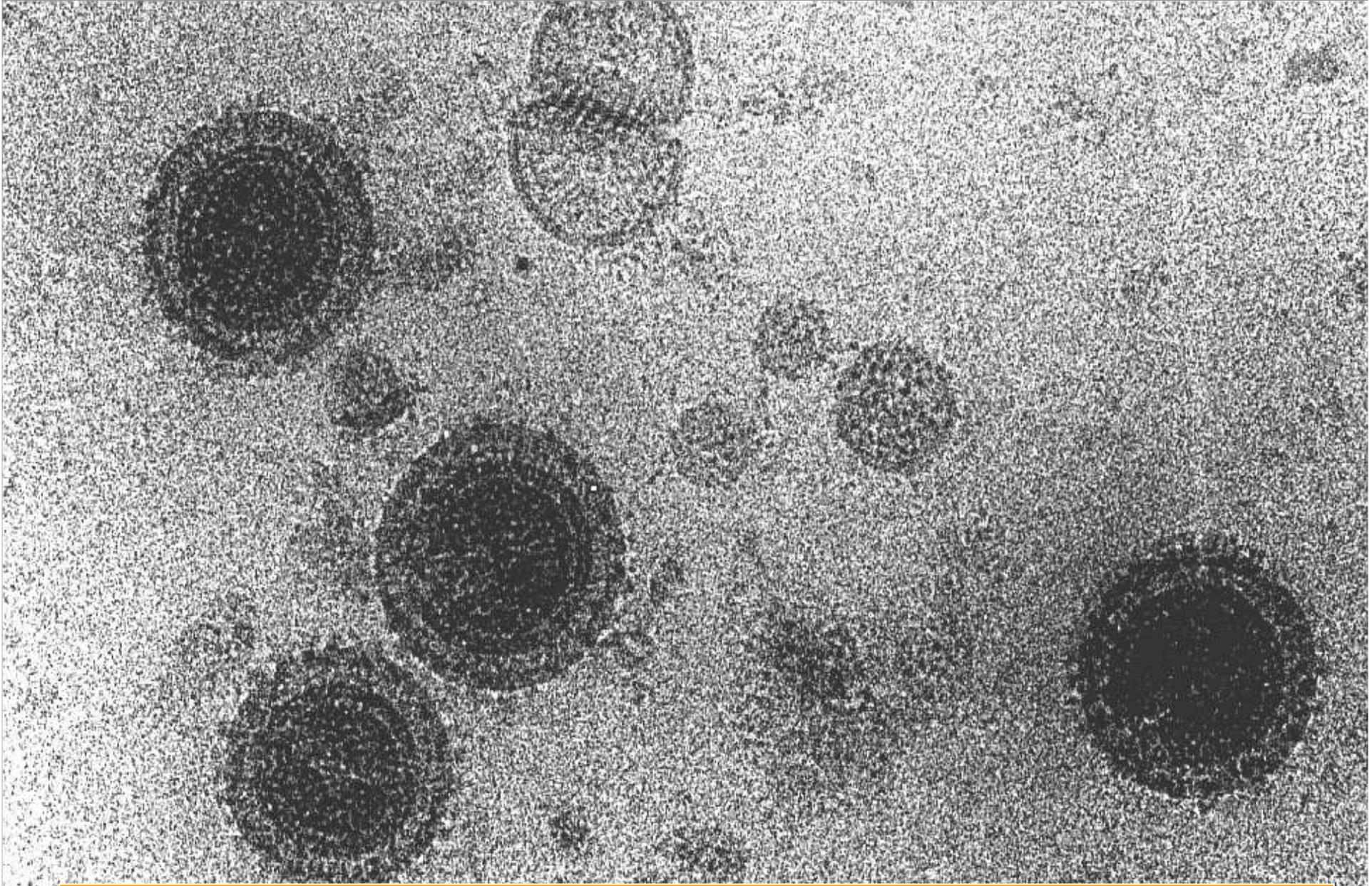
VIRUS SONT DANS L'EAU, L'AIR ET LE SOL
DANS TOUT LE MONDE VIVANT
EXOGENE, ENDOGENE, DORMANT
PATHOGENES ET NON-PATHOGENES
SEQUENCES VIRALES DANS LES GENOMES

LES VIRUS SONT CONSUBSTANTIELS À LA VIE
MAIS SONT-ILS DES ÊTRES VIVANTS?

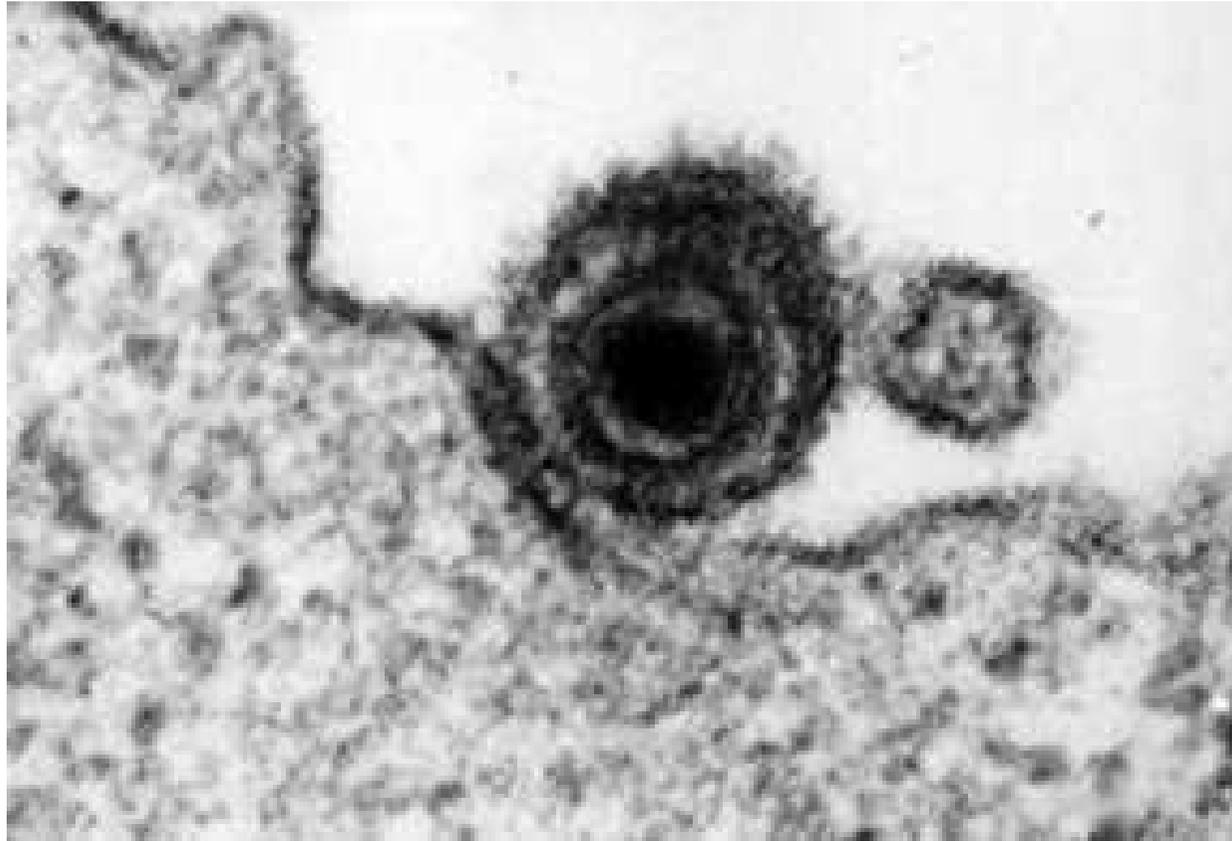
115 nm

Virus exogène: le HIV, l'agent causal du SIDA

Ottmann, Darlix et al., JVI 1995



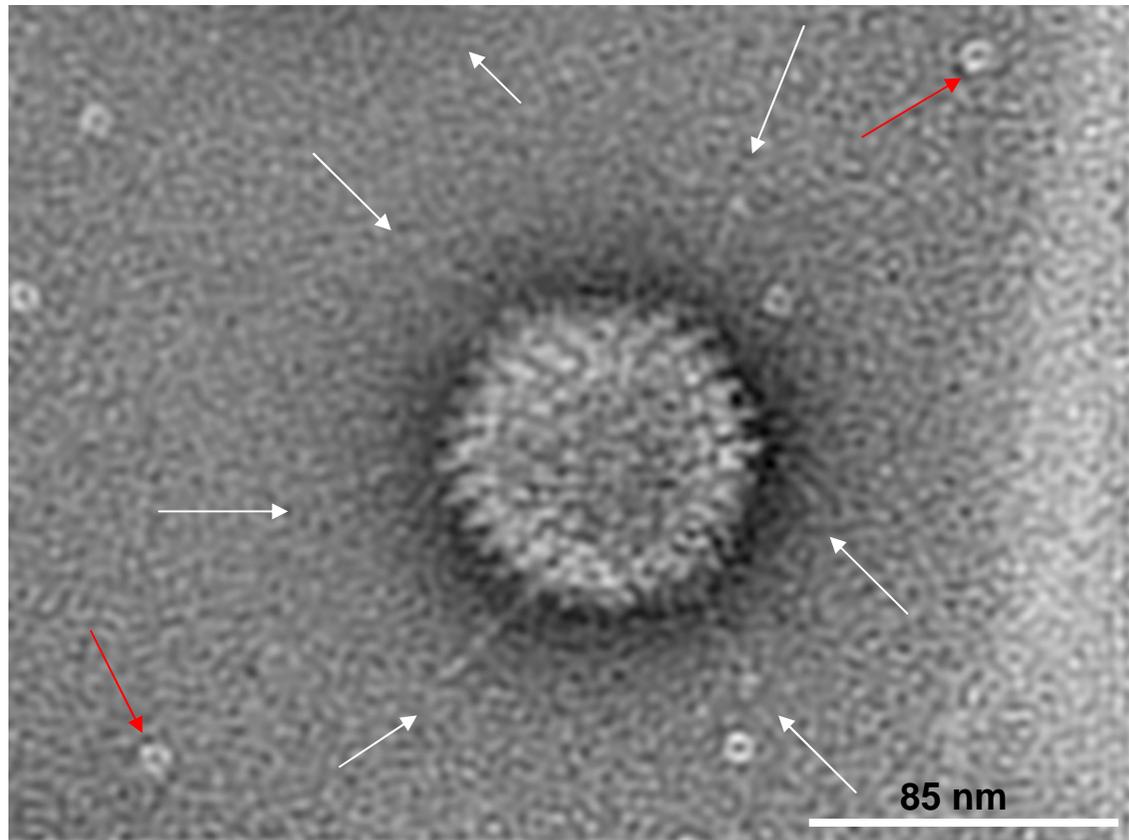
VIRUS ENDO- ET EXOGÈNES: LES MLV PAR cryoME; *Dubochet & Darlix*



Virus exogène très répandu: EBV ou virus d'Epstein Barr

Ici attaché à son récepteur (le CD21) à la surface d'un lymphocyte B
EBV est dormant dans la majorité des cas, mais s'exprime
lors de déficits immunitaires

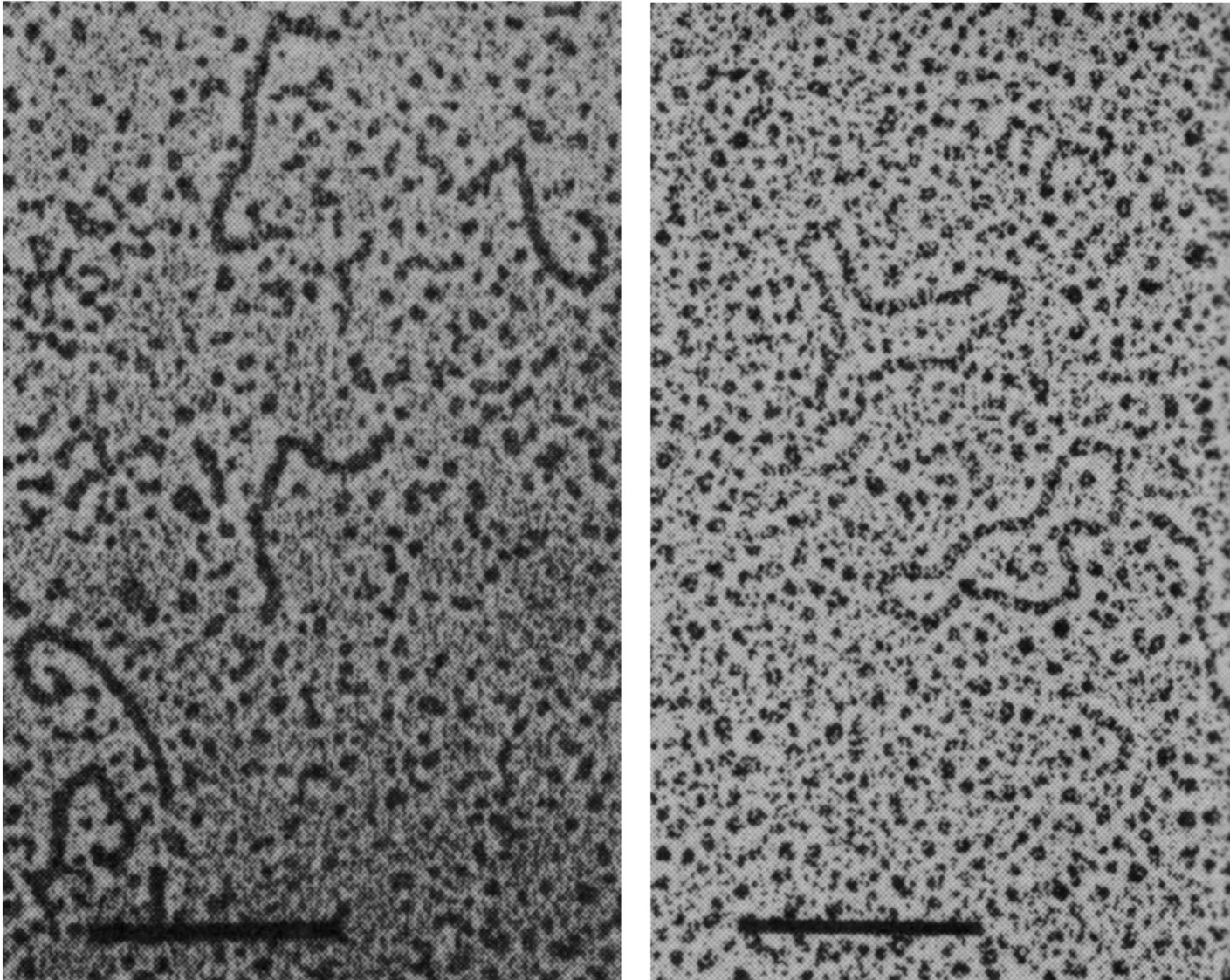
Courtesy of H Gruffat (ENS, LYON)



Virus exogène très répandu: l'Adenovirus humain de type 5

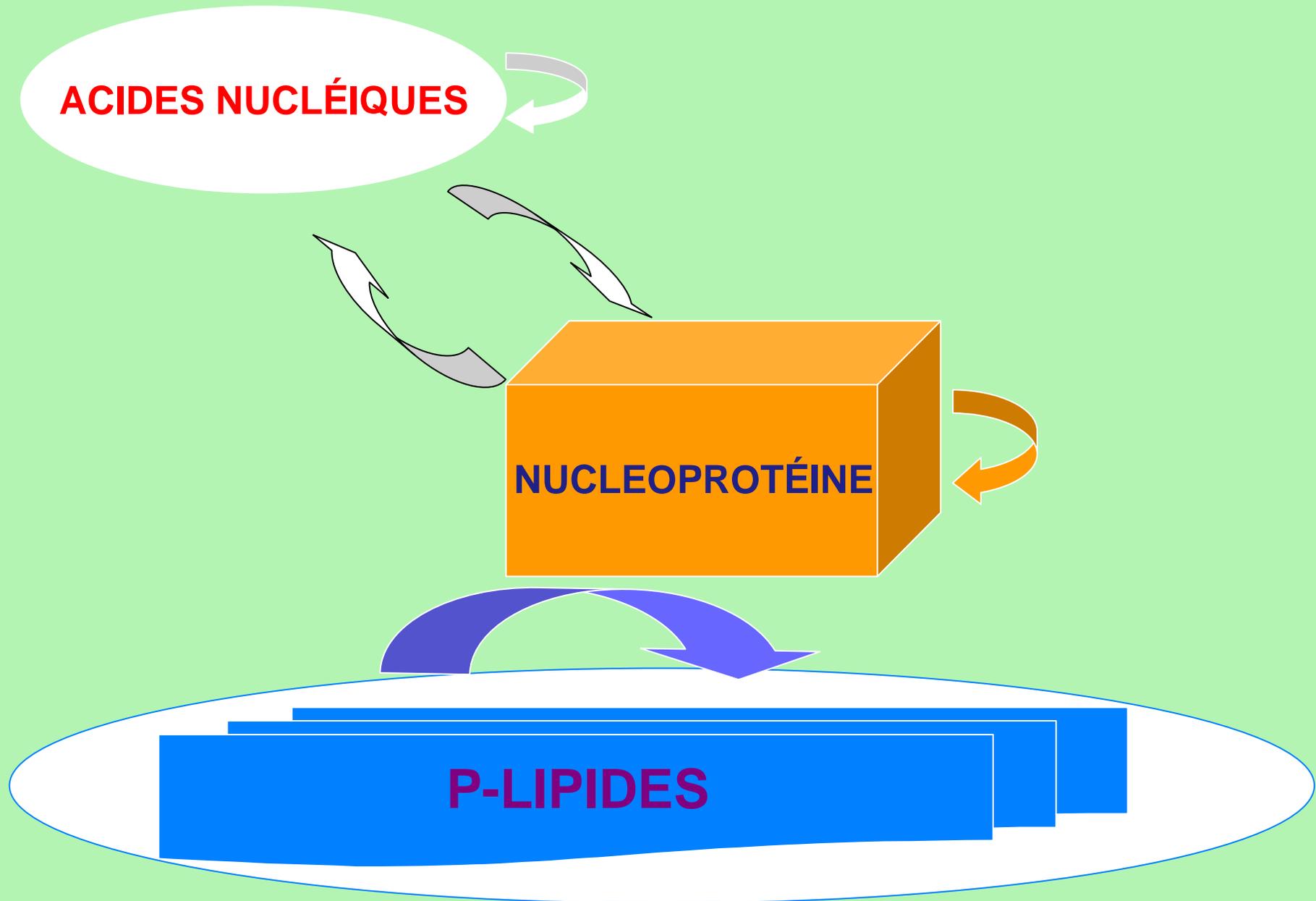
Les flèches blanches montrent les fibres du virus, sortant des apex.

Photo de ME par P. Boulanger (Lyon) et Guy Schoehn (Grenoble).



Viroïds: HDV RNA, circulaire et auto-complémentaire
Microscopie électronique de l'ARN natif (Gauche), et dénaturé (Droit)

LES COMPOSANTS DE BASE DES VIRUS ET ORGANISMES VIVANTS



PROPRIÉTÉS FONDAMENTALES DES VIRUS

- INVISIBLES, ABONDANTS CHEZ LES ANIMAUX, PLANTES, CHAMPIGNONS, BACTERIES
 - PARASITENT LES CELLULES ET LES ORGANISMES POUR SE REPLIQUER
 - SONT FORMES DES COMPOSANTS DE BASE DU VIVANT
 - PEUVENT CAUSER DES MALADIES
- VIRUS, VIRUSOÏDES ET VIROÏDES

VIRUS: LES NOUVEAUTÉS

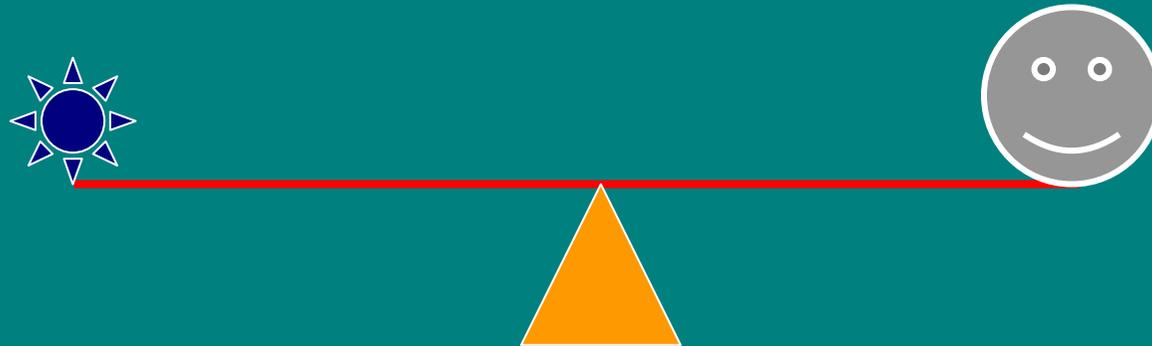
- SONT EXTRÊMEMENT ABONDANTS DANS LA NATURE
 - CONSTITUENT UNE LARGE PARTIE DE NOTRE GÉNOME - 40%
 - À L'ORIGINE DE MUTATIONS ET DE RECOMBINAISONS GÉNÉTIQUES
 - SONT UTILISÉS COMME VECTEURS GÉNÉRAUX DE TRANSGENÈSE EN RECHERCHE ET MÉDECINE THÉRAPEUTIQUE

LES VIRUS, UNE VOIE VERS LE MEILLEUR DES MONDESA.H.?

LES VIRUS

UN ÉQUILIBRE PERMANENT ENTRE VIRUS ET HÔTE

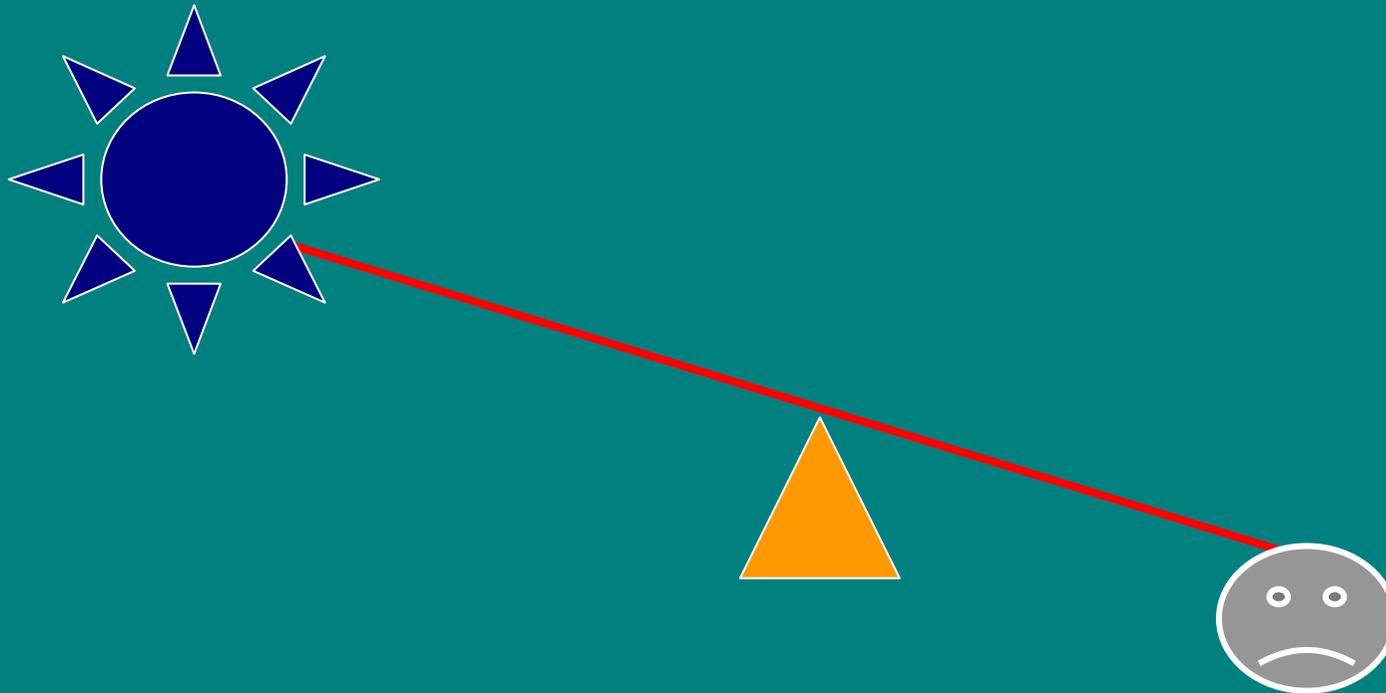
LA DYNAMIQUE DE CET ÉQUILIBRE DANS LE TEMPS EST FONCTION DE LA TAILLE DE LA POPULATION VIRALE, SA DIVERSITÉ ET SA DISPERSION LE(S) HÔTES, LEUR SANTÉ, EN PARTICULIER DÉFENSE INNÉE ET ACQUISE, LEUR NOMBRE ET LES FACTEURS CIRCONSTANCIELS (GUERRE, FAMINE?)



LES VIRUS

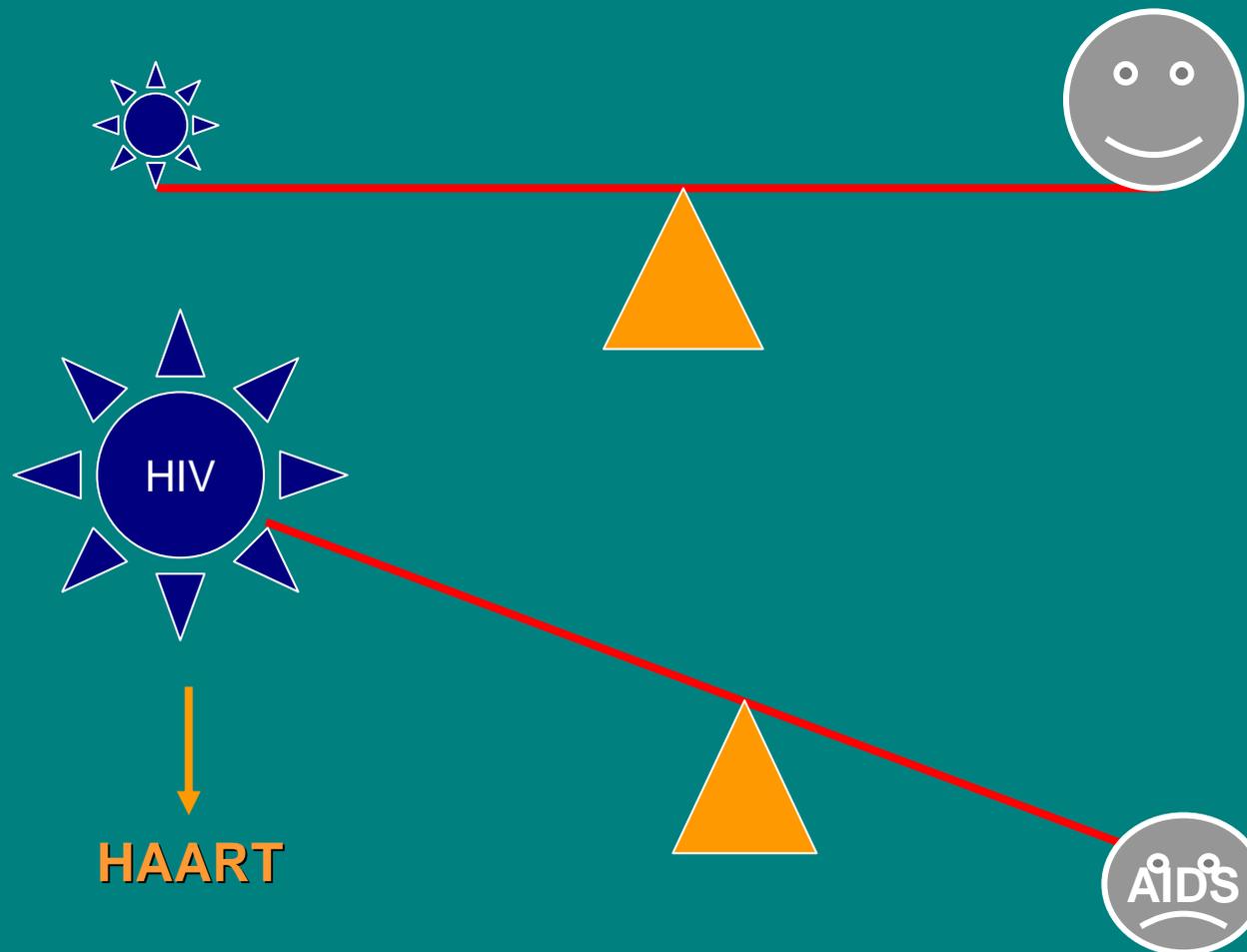
VIRUS EBOLA, PATHOGÈNE EXTRÊME

EBOLAV, CHARGE VIRALE, PATHOGÉNICITÉ, ET RAPIDITÉ +++;
MAIS LOCALISATION RESTREINTE ET DISSÉMINATION TRÈS RÉDUITE



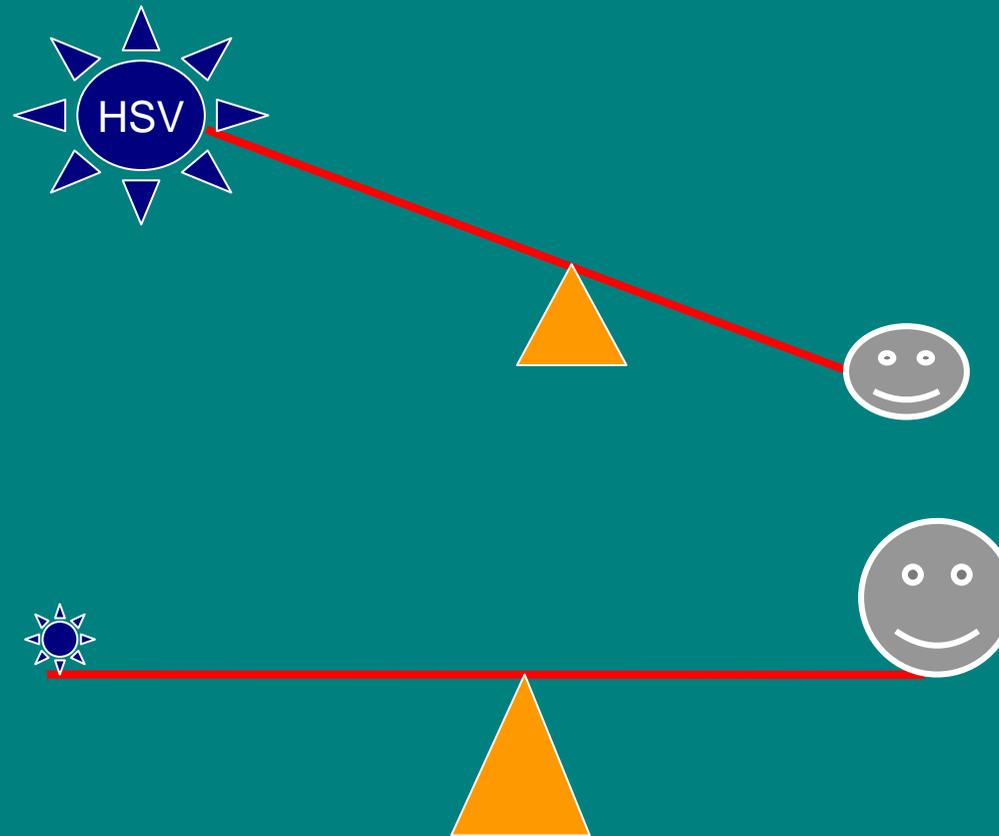
LES VIRUS

HIV-1 (SIDA); HCV, HBV (HÉPATITES)
CHARGE VIRALE ÉLEVÉE ET PATHOGÉNÉICITÉ SOUS CONTRÔLE
DISSÉMINATION TRÈS ACTIVE À MOYEN-LONG TERME ET PATHOGÉNÉICITÉ
PAR STIMULATION RÉPÉTÉE PUIS ÉPUISEMENT DE LA RÉPONSE IMMUNE



LES VIRUS

VIRUS D'EPSTEIN BARR et HSV
CHARGE VIRALE ++, MAIS TRÈS PEU PATHOGÈNE
A CAUSE DE CONTRÔLES STRICTS (sauf immuno-suppression)
TRÈS LARGE DISSÉMINATION MONDIALE (95%)



**HIV-1, LE VIRUS DU SIDA, 25 ANS APRÈS
D'OÙ VIENT-IL? QUEL EST-IL?
COMMENT LE CONTRER ?**

**JEAN-LUC DARLIX
LABORETRO**

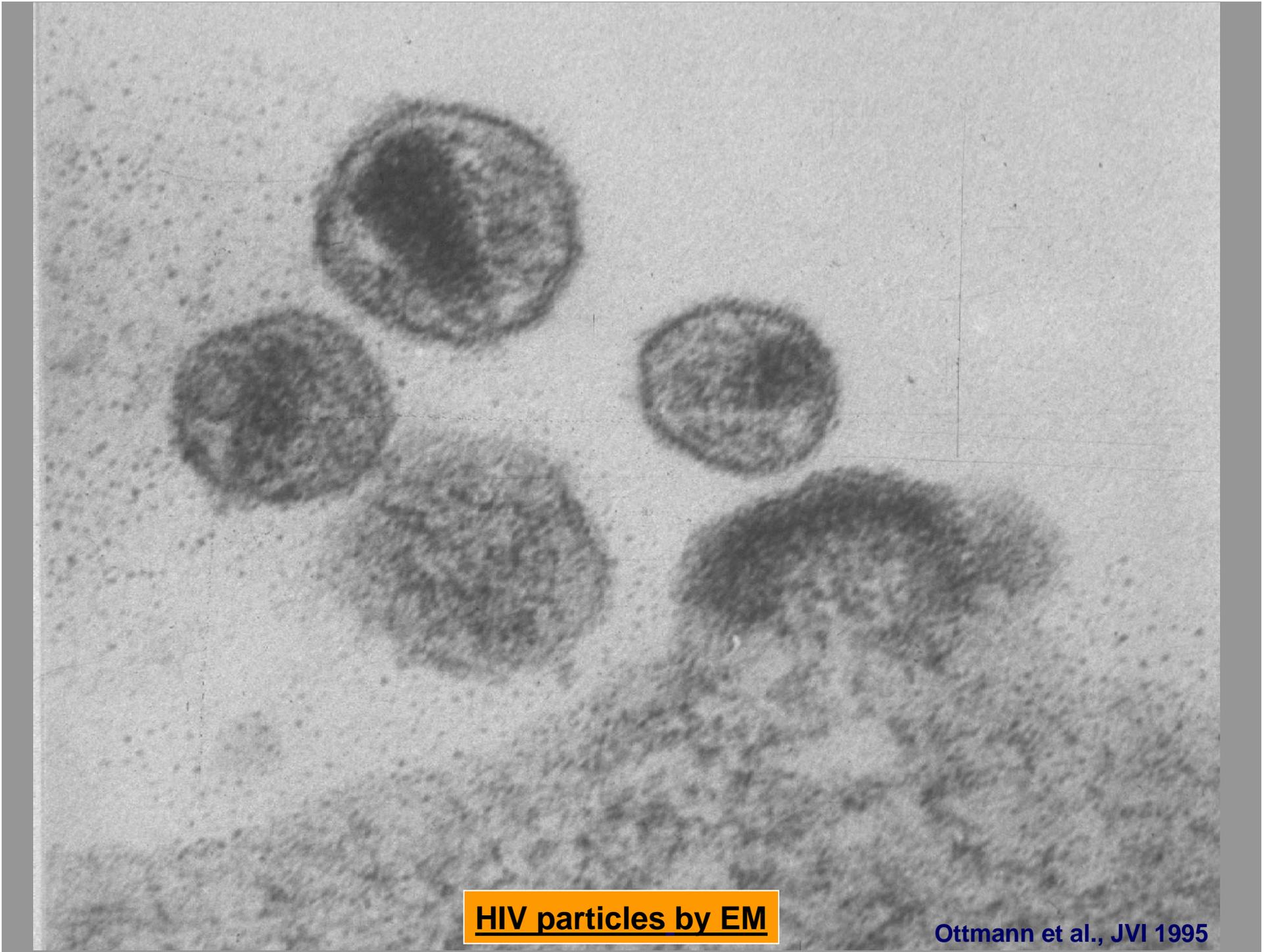
**Unité de Virologie Humaine, INSERM
Ecole Normale Supérieure de Lyon, France.**

Jldarlix@ens-lyon.fr

HIV-1, LE VIRUS DU SIDA, 25 ANS APRÈS SES ORIGINES DIRECTES...

**QUEL EST-IL?
COMMENT LE CONTRER ?**

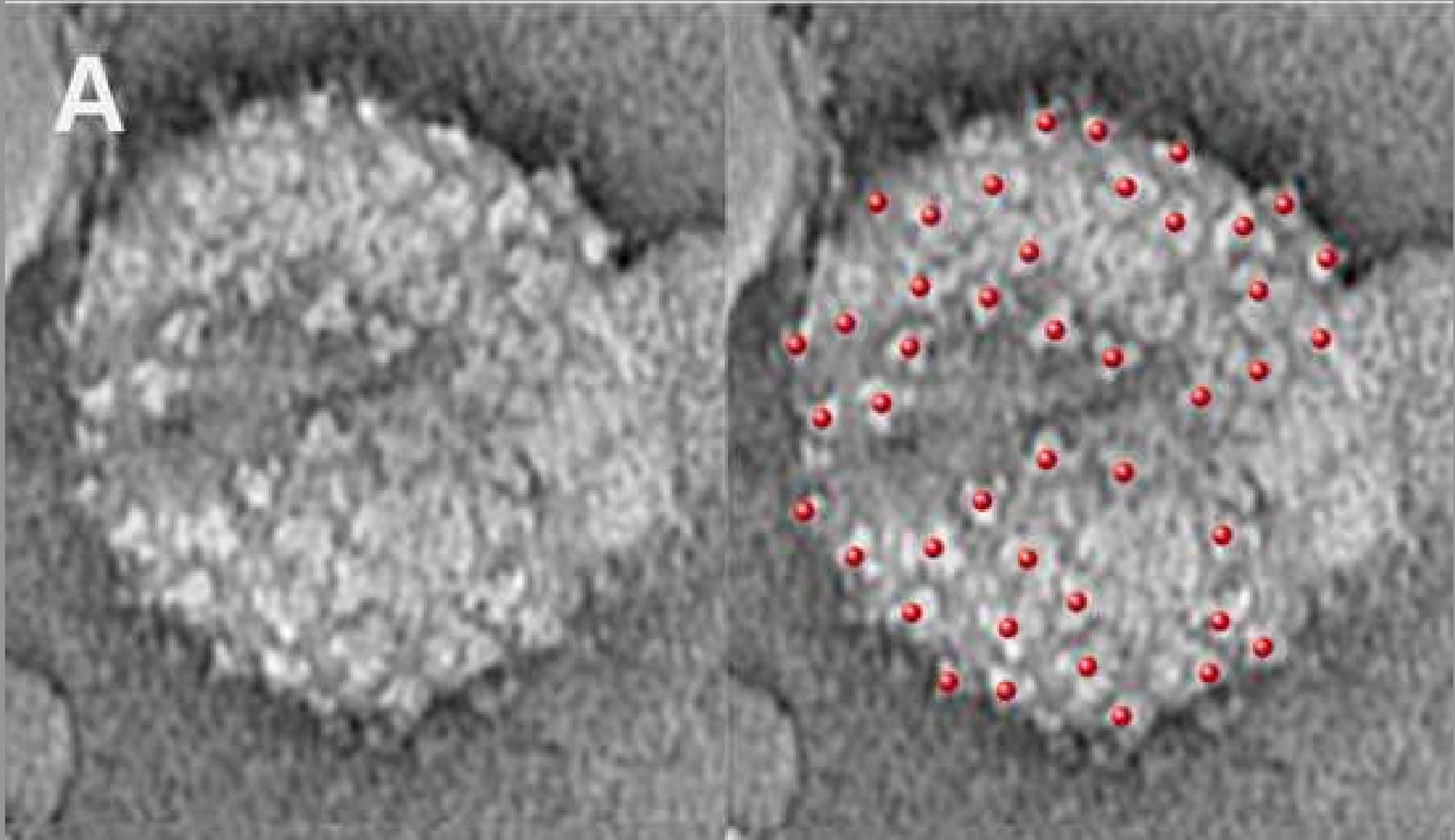
Jldarlix@ens-lyon.fr



HIV particles by EM

Ottmann et al., JVI 1995

3-D Electron Tomography of AT-2 Inactivated SIV Virions



Courtesy of K Roux, P Zhu, P Kwong, NCI USA

**HIV-1, LE VIRUS DU SIDA, 25 ANS APRÈS
SES ORIGINES DIRECTES...
FORT PROBABLE QU'IL Y AIT EU PASSAGE(S) DU HIV
ENTRE COMMUNAUTÉS ANIMALES ET HUMAINES**

**HIV-1 a circulé dès les années 1950 en Afrique
(Congo, Cameroun),
puis au milieu des années 1960 dans les Caraïbes
et a sans doute circulé 10-12 ans aux USA.
Epidémie commence au début des années 1980**

**QUEL EST-IL?
COMMENT LE CONTRER ?**

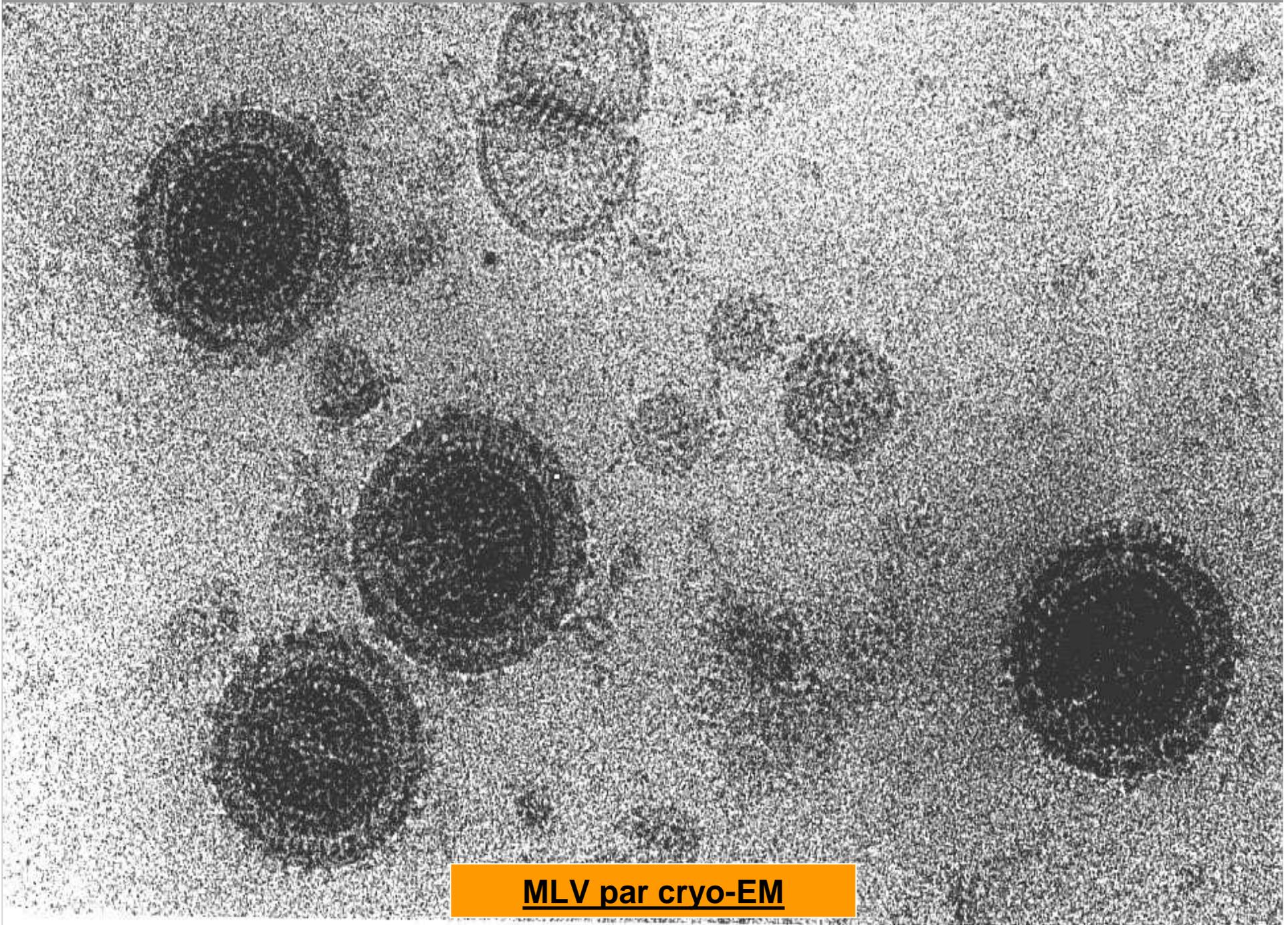
Jldarlix@ens-lyon.fr

**HIV-1, LE VIRUS DU SIDA, 25 ANS APRÈS
SES ORIGINES DIRECTES...
FORT PROBABLE QU'IL Y AIT EU PASSAGE(S) DU HIV
ENTRE COMMUNAUTÉS ANIMALES ET HUMAINES**

QUELLES SONT LES LOINTAINES ORIGINES DU HIV?

**QUEL EST-IL?
COMMENT LE CONTRER ?**

Jldarlix@ens-lyon.fr

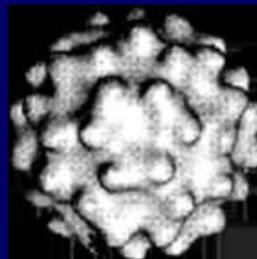
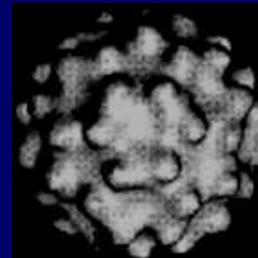
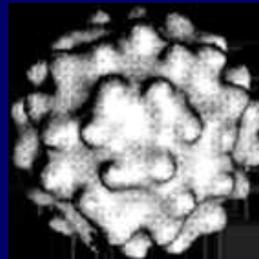
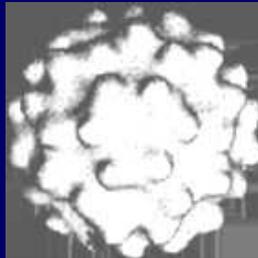


MLV par cryo-EM

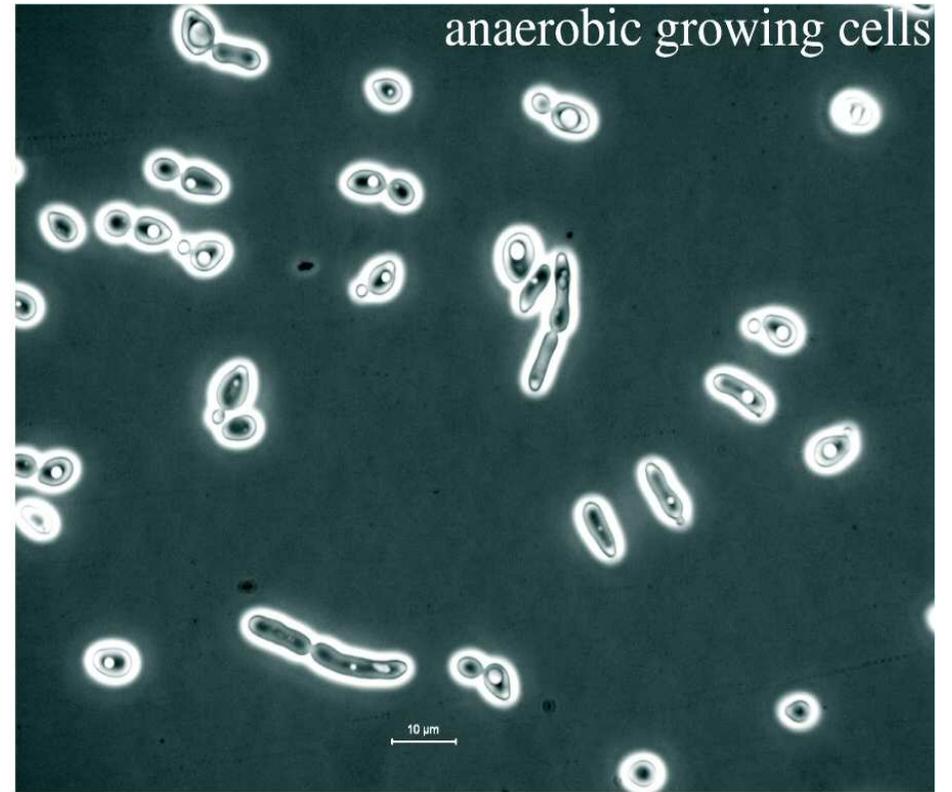
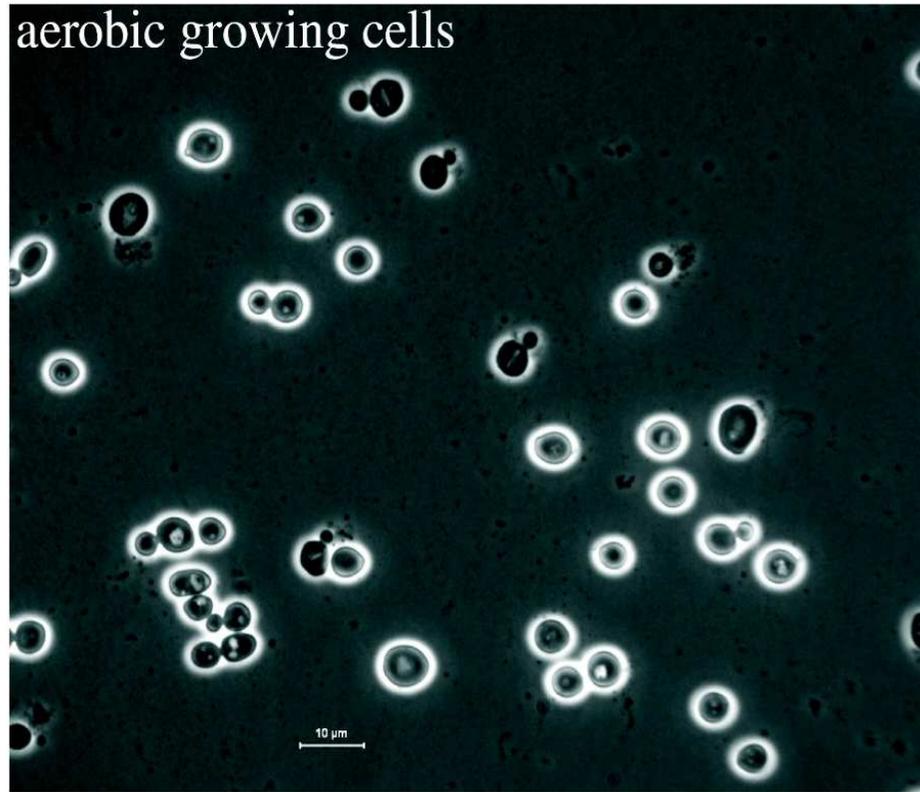


Les MLV infectent les souris et plus généralement les rongeurs, et l'homme

50 nm



PARTICULES TY DE LEVURE



Levures

HIV-1, LE VIRUS DU SIDA, 25 ANS APRÈS
SES ORIGINES DIRECTES...
FORT PROBABLE QU'IL Y AIT EU PASSAGE(S) DU HIV
ENTRE COMMUNAUTÉS ANIMALES ET HUMAINES

**QUELLES SONT LES LOINTAINES ORIGINES DU HIV:
PROBABLEMENT LES RETROTRANSPOSONS
DE LEVURE DITS LES TYS**

QUEL EST-IL?
COMMENT LE CONTRER ?

Jldarlix@ens-lyon.fr

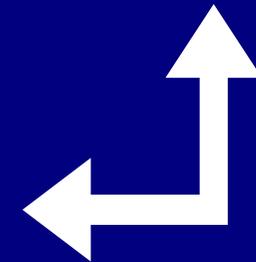
GENETIQUE DES RETROVIRUS ET RETROTRANSPOSONS

Retrovirus:
ASLV, HIV, MLV, FIV...

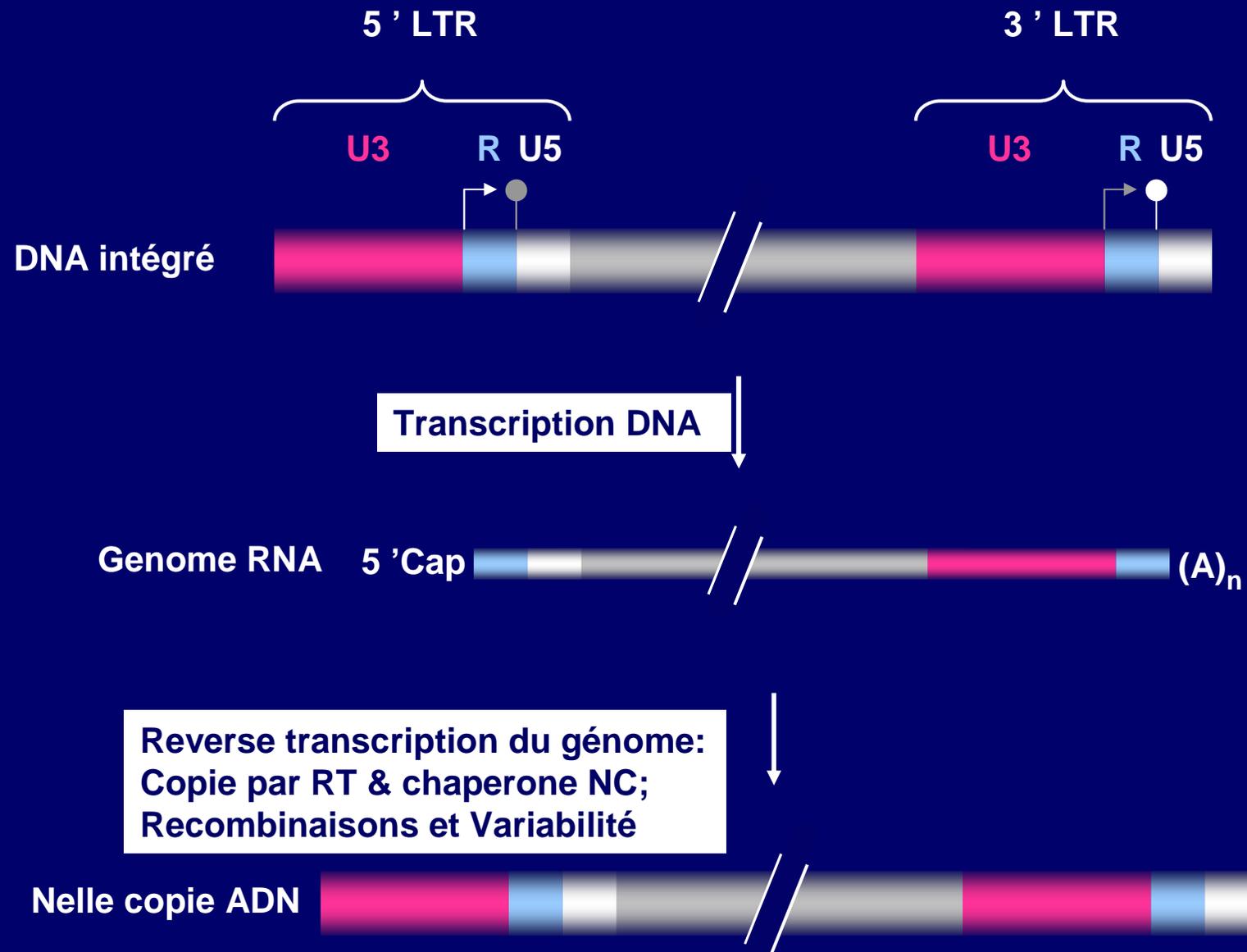


LTR Retrotransposons:
Ty's, ERV, VL30), HERV

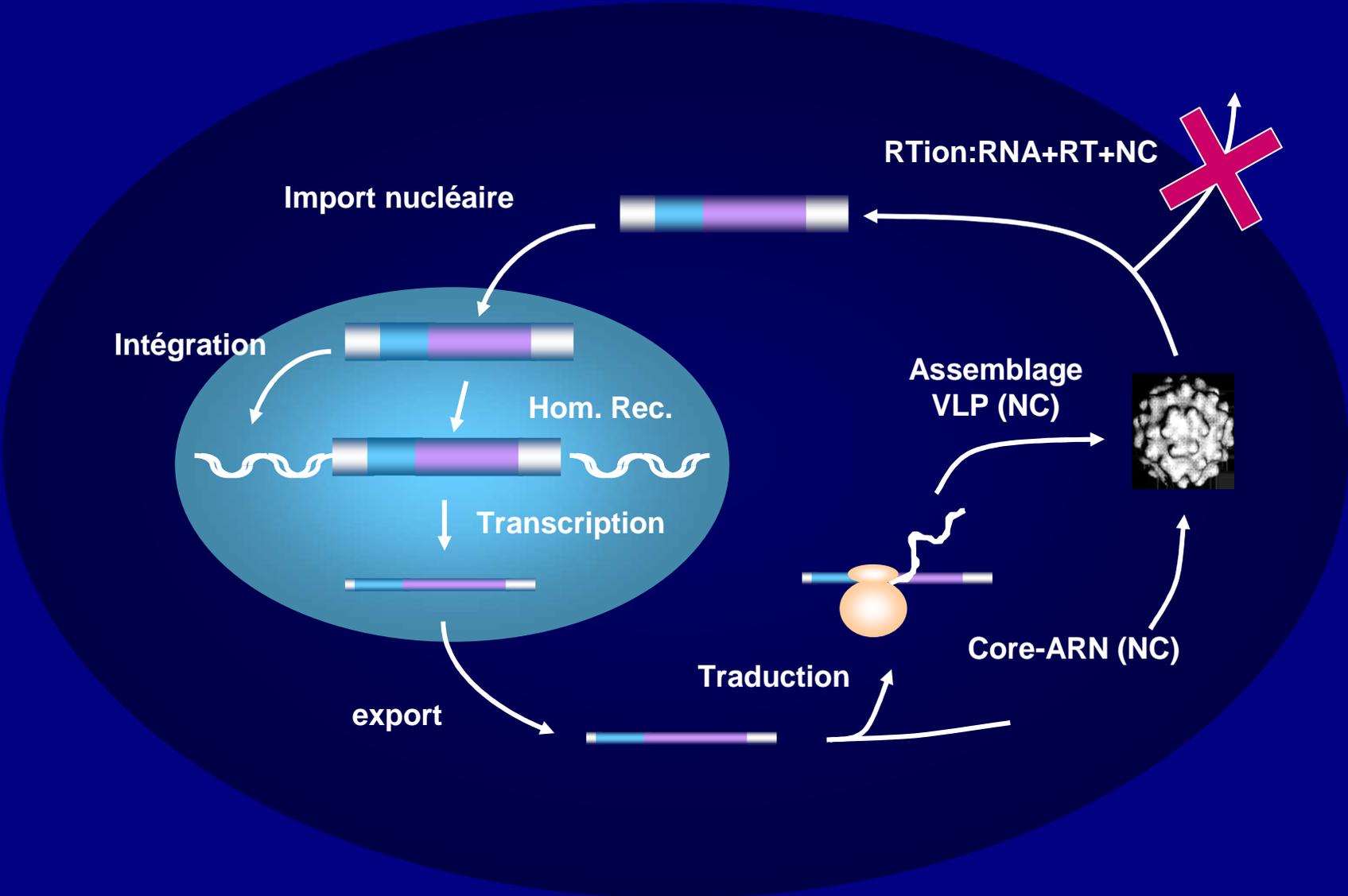
LTR-sin Retrotransposons
(I, R1, Lines, L1...Alu...)



REVERSE TRANSCRIPTION chez les RETROELEMENTS

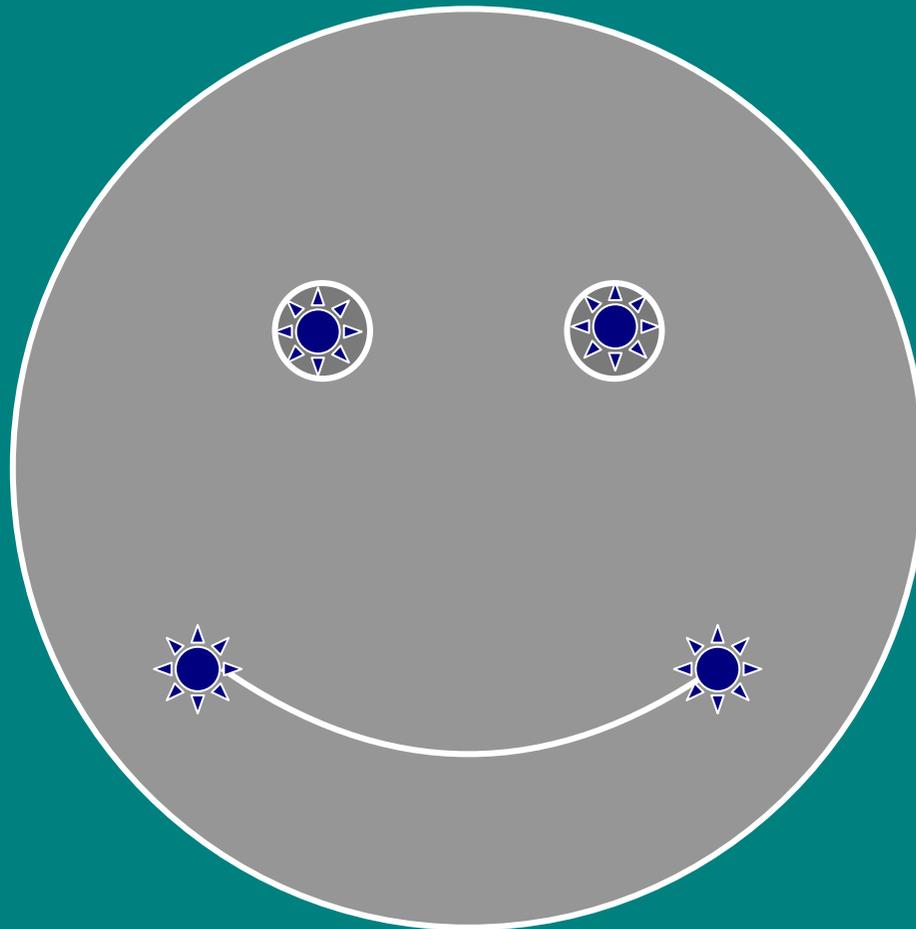


RETROTRANSPOSITION CHEZ LA LEVURE

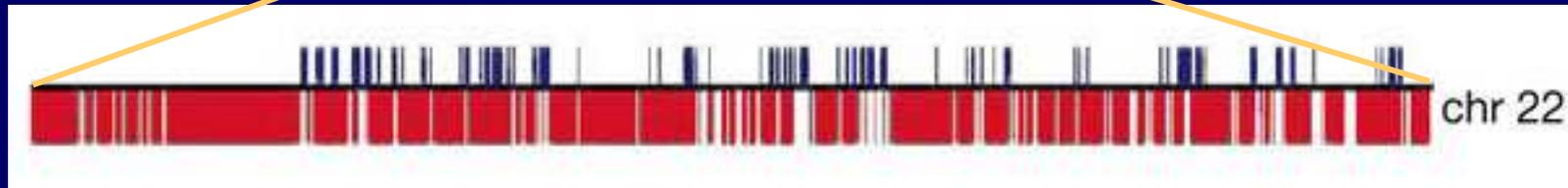


LES VIRUS ENDOGÈNES

LES VIRUS EN CHACUN DE NOUS: RETROTRANSPOSONS, HERV



Retrotransposons dans le génome humain



□ gènes

■ RTons

- Fraction majeure
- Ubiquitaires
- Mobiles

HGC, *Nature*, 2001.

Conclusions et hypothèses

#1. Les Rétroéléments sont abondants chez tous les organismes vivants de la levure à l'homme, et modifient en permanence leur contenu et organisation génétiques par réarrangements; Ces éléments seraient impliqués dans des défenses anti-virales.

#2. Les Rétroéléments de type Ty se répliquent selon des mécanismes très proches de ceux utilisés par le HIV-1, et les Rétrovirus en général.

#3. Les Tys seraient les éléments génétiques fondateurs des Rétrovirus et du virus HIV-1 du SIDA...

HIV-1

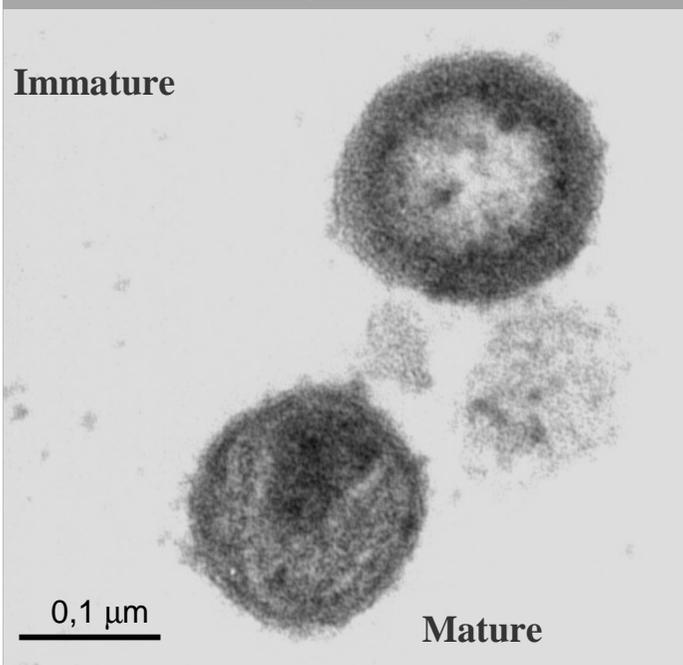
THE VIRUS

THE INTERPLAY WITH THE IMMUNE SYSTEM

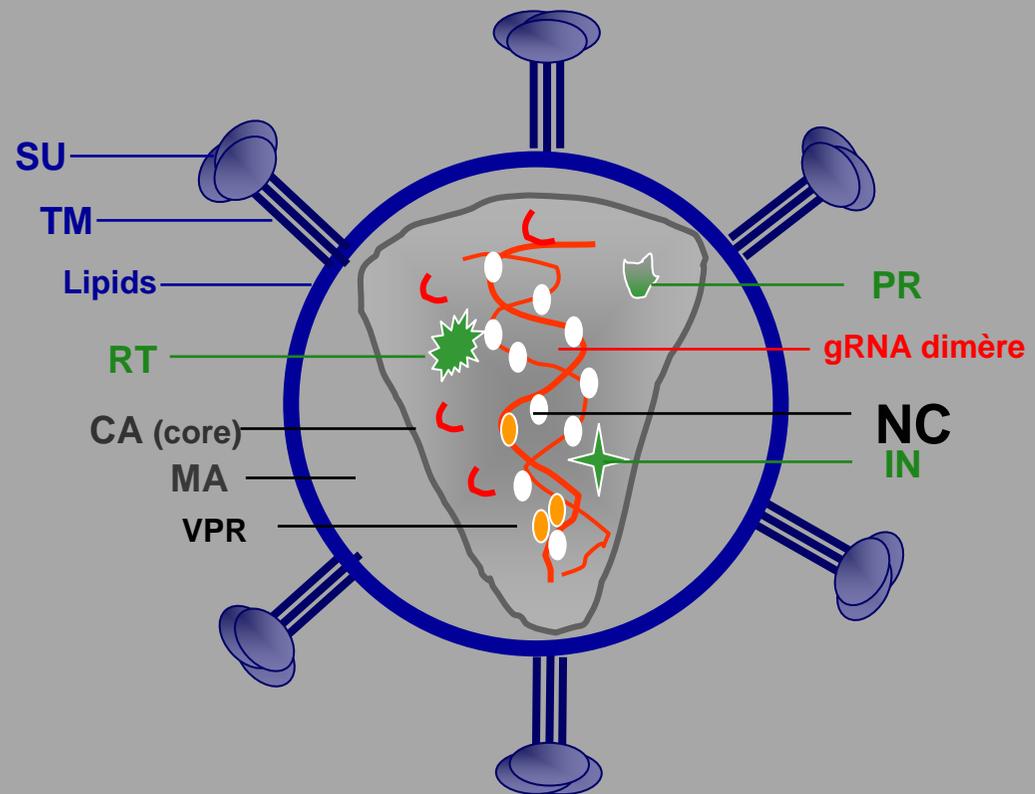
NEW ANTI-VIRAL TREATMENTS AND DRUGS

Morphologie de la particule HIV-1

Microscopie électronique

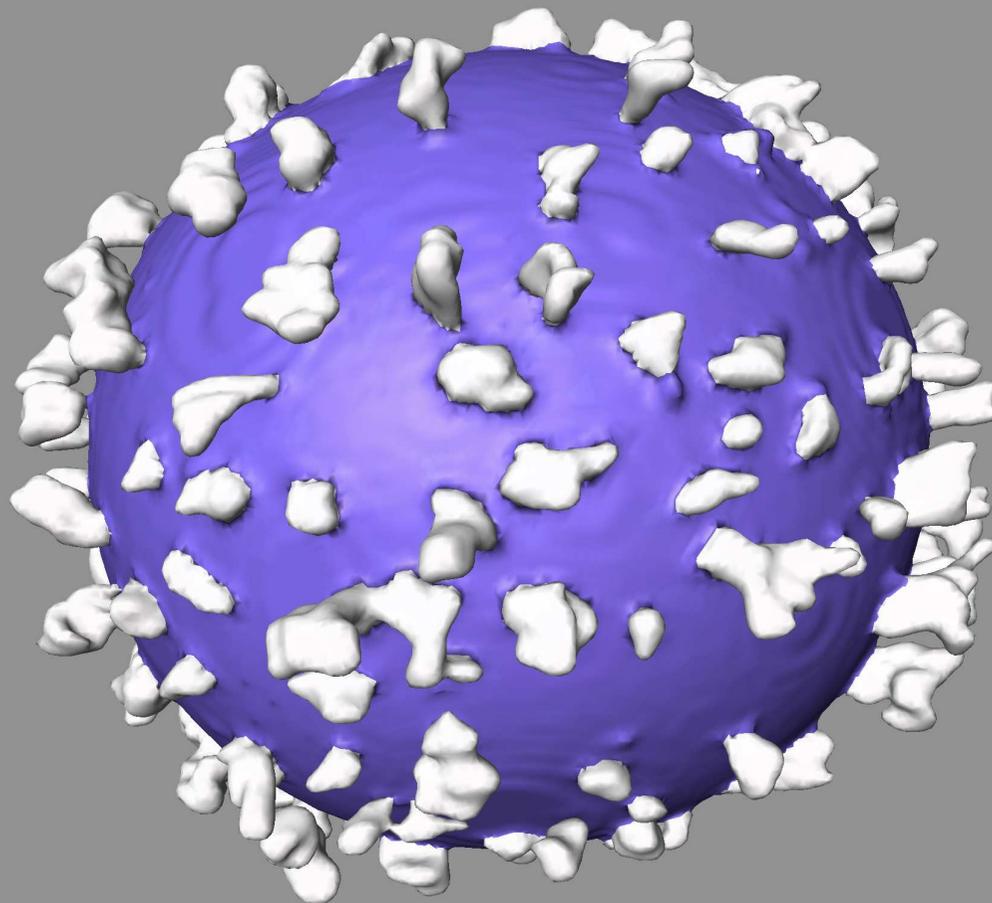


Schéma

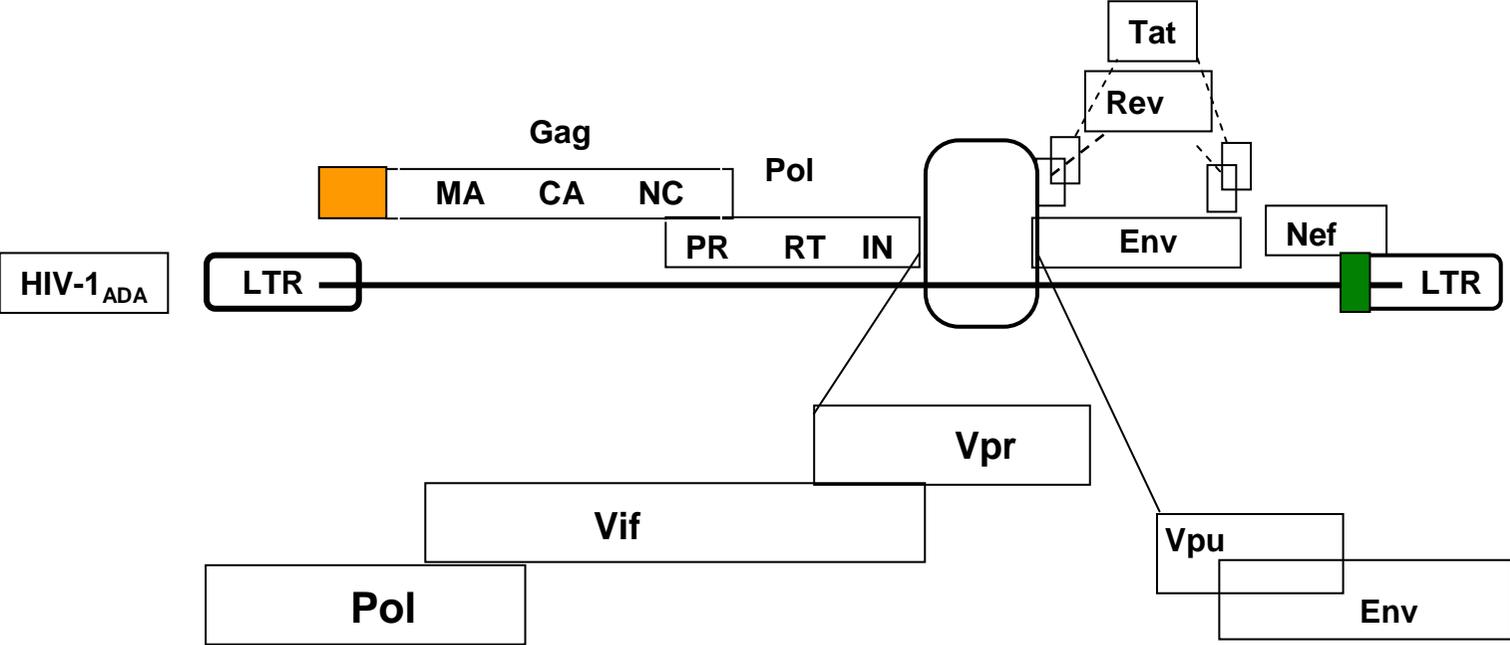


ENVELOPPE: SU & TM (tri)
Matrix: MA
CORE: CA, NC.
ENZYMES: PR, RT & IN
Genome RNA (x2) & tRNAs

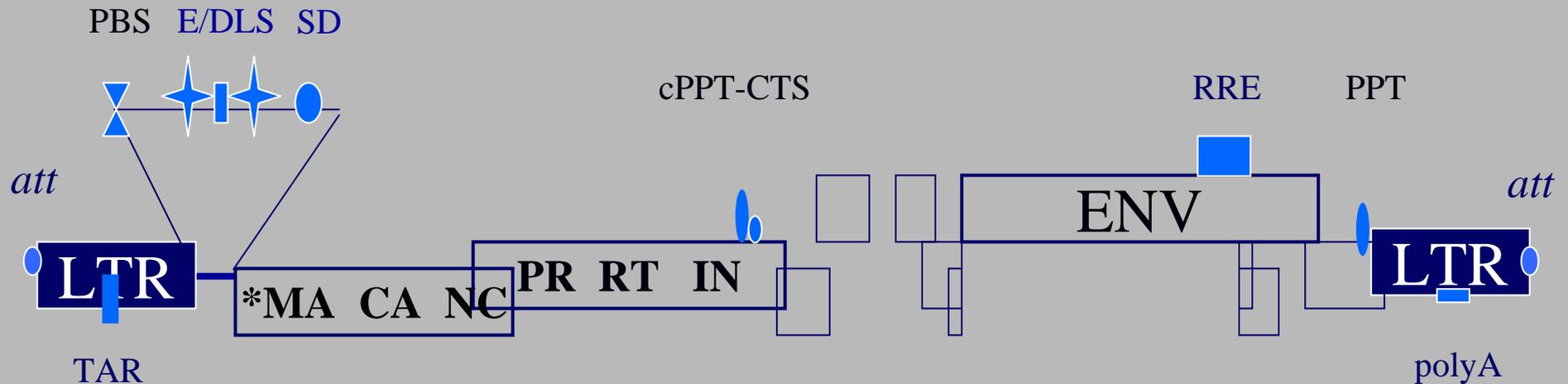
THE ENVELOPE OF THE LENTIVIRUS PARTICLE



GENETIC STRUCTURE OF THE HIV-1 DNA



Structure génétique du provirus HIV-1



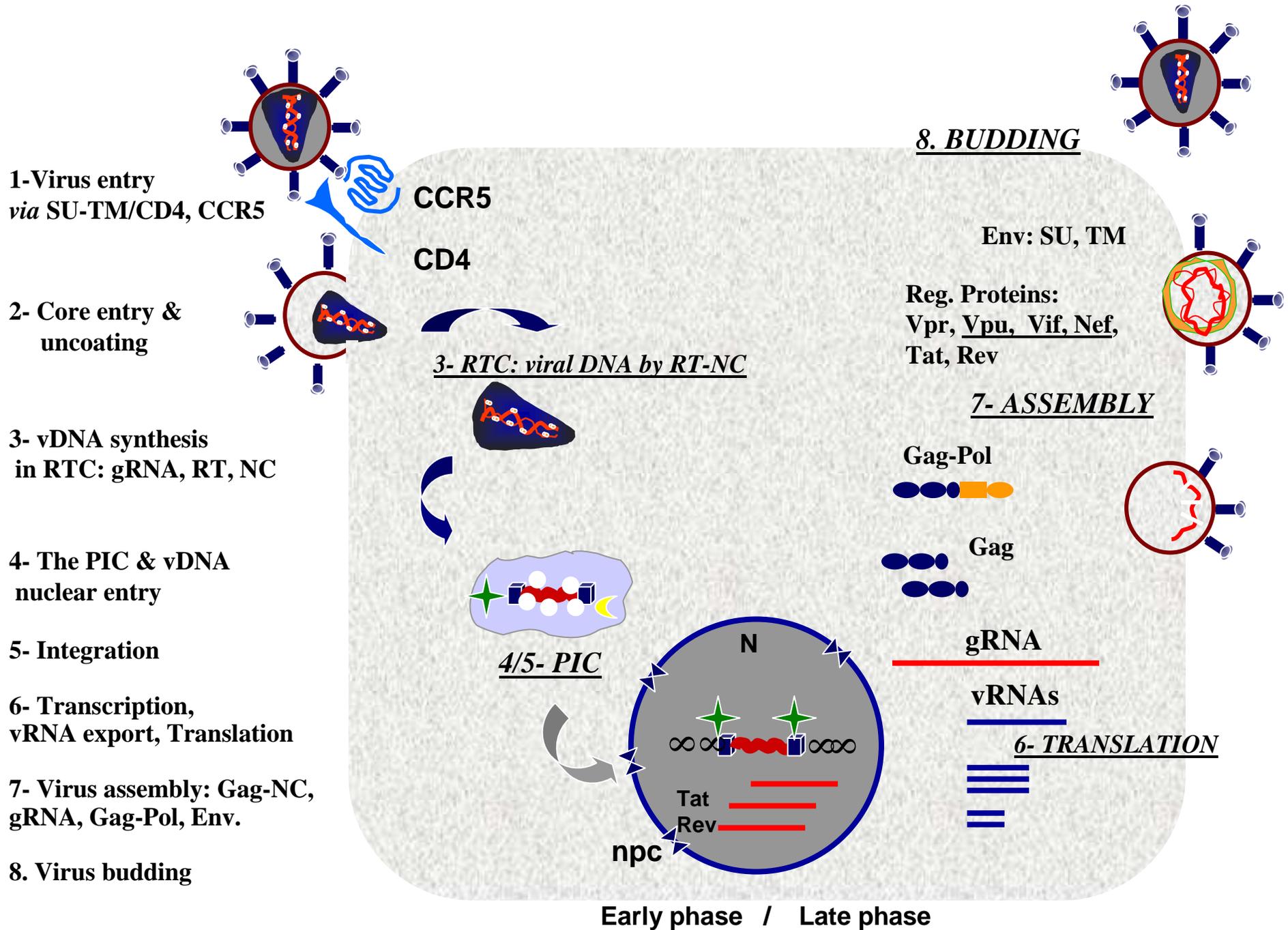
Gag (structures): MAp17, CAp24, NCp7 et p6.

Pol (enzymes): PR, RT et IN. **Env** (enveloppe): SUgp120 and TMgp41

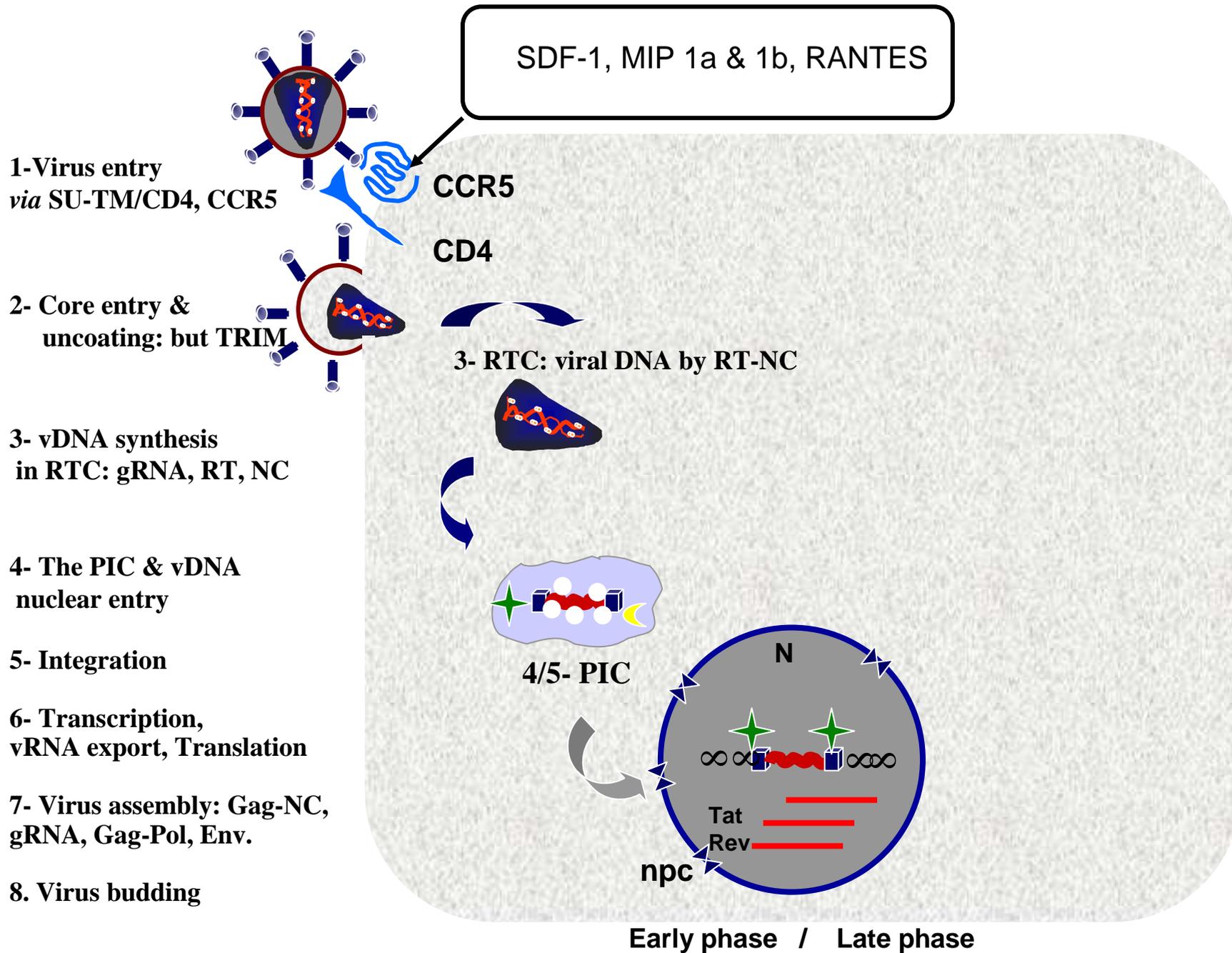
➡ *cis*-active sequences

PBS, PPT R, cPPT-CTS	Reverse transcription, RT and NC	TAR	Provirus transcription, TAT
cPPT-CTS	Nuclear Import	RRE	RNA export, REV
<i>att</i>	Integration, IN (NC)	SD	Splicing
		E/DLS	Packaging, NC

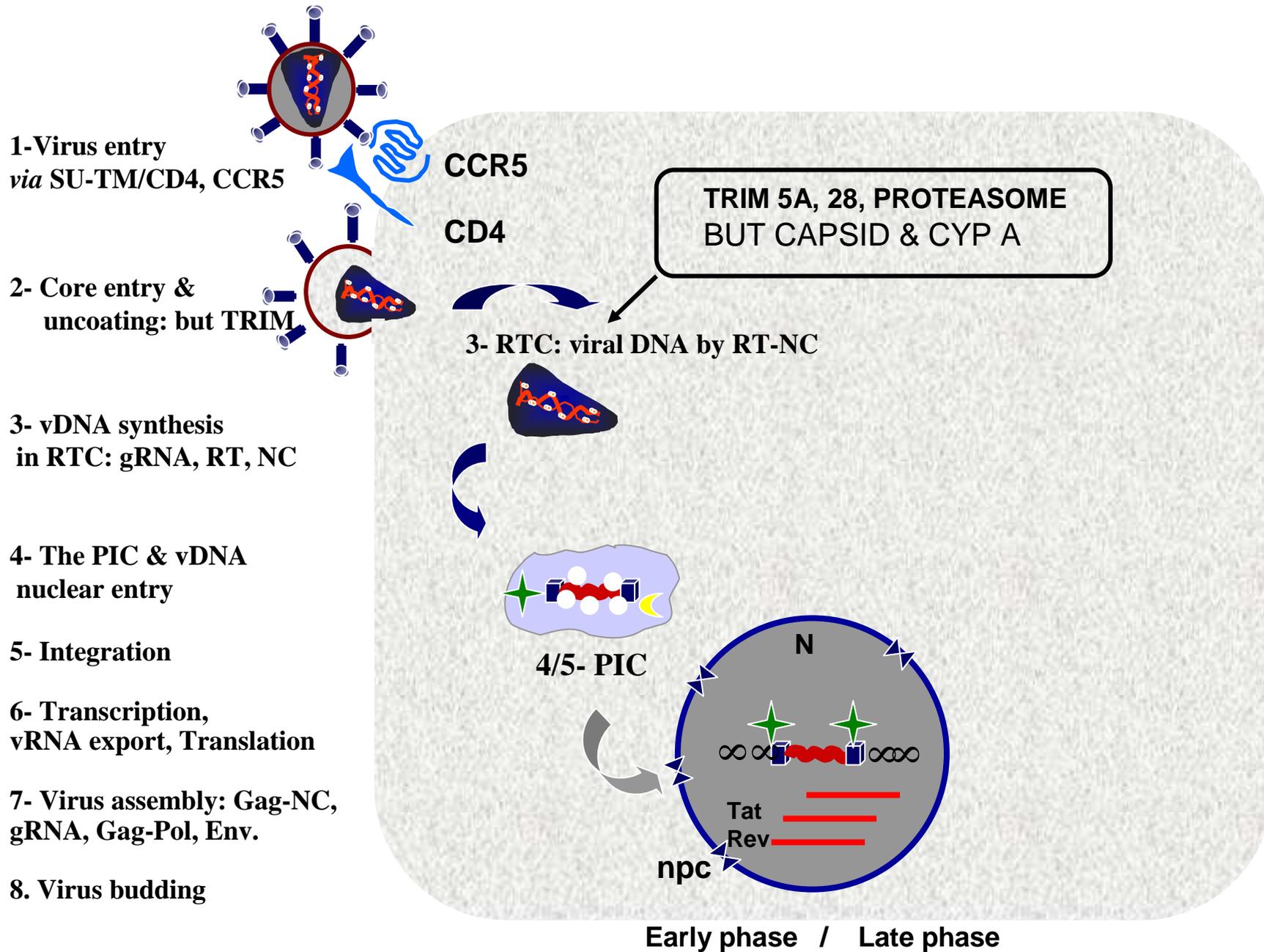
SCHEMATIC REPRESENTATION OF HIV-1 REPLICATION



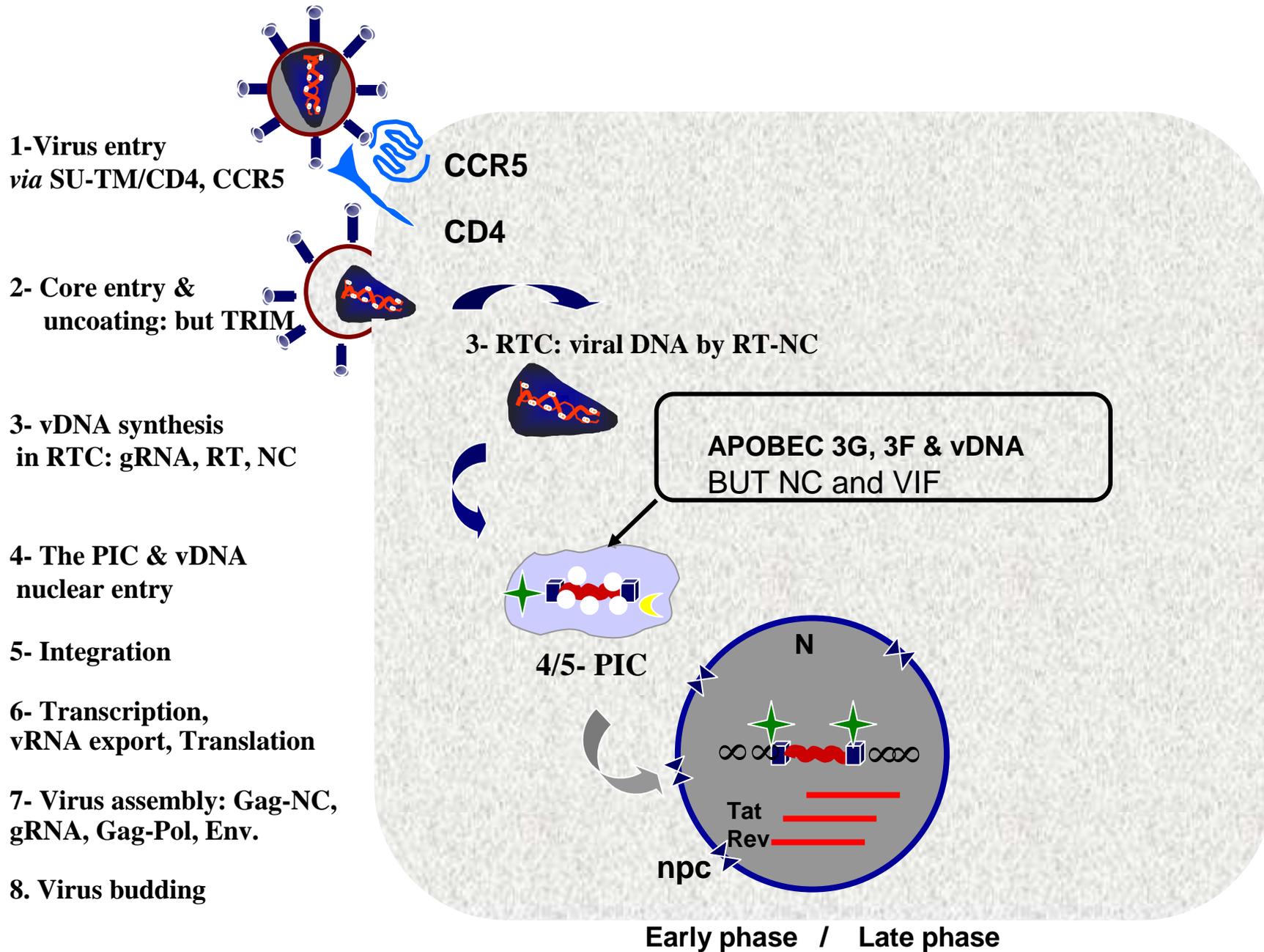
HIV-1 REPLICATION AND HOST INNATE DEFENCES (I)



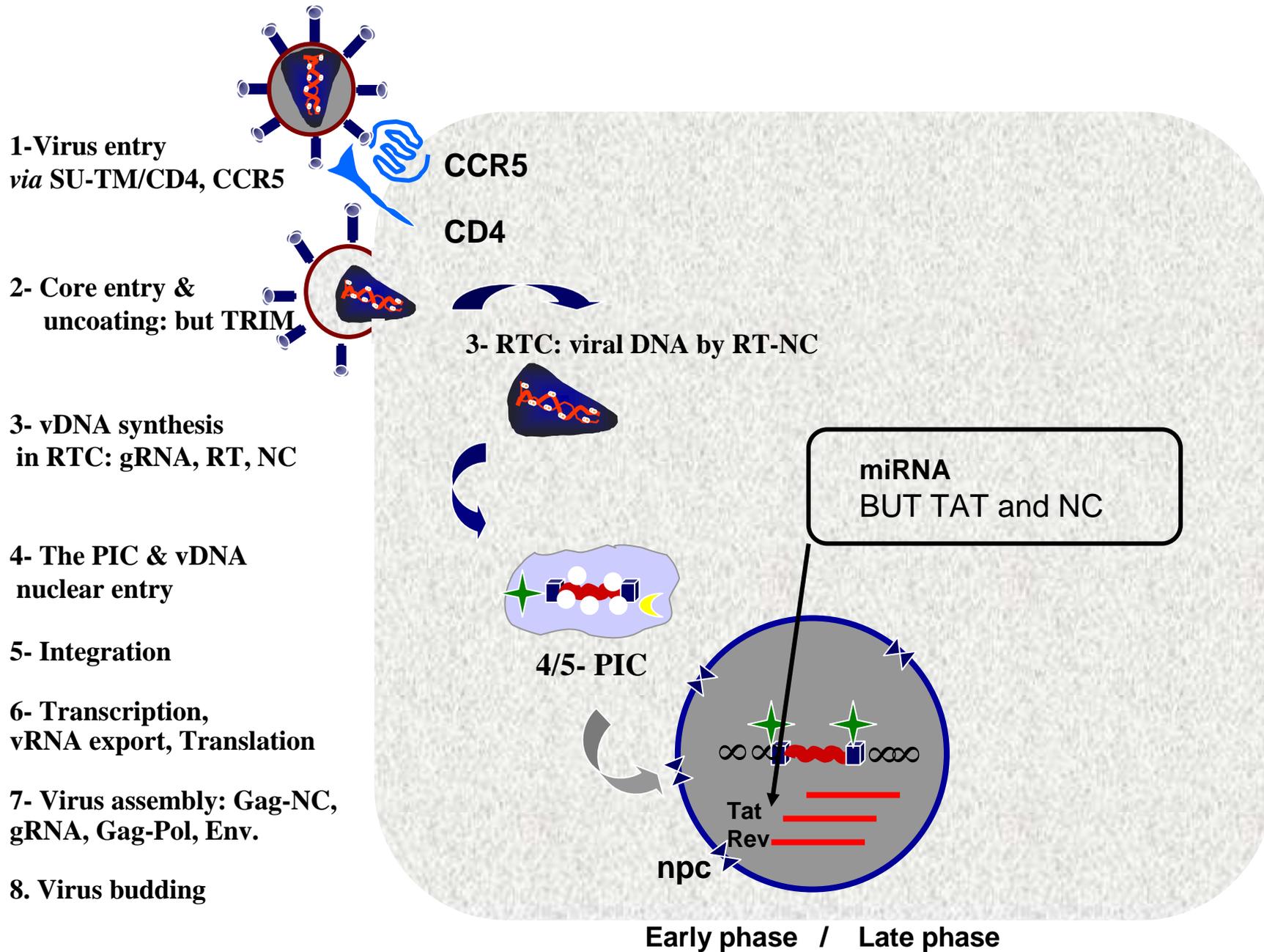
HIV-1 REPLICATION AND HOST INNATE DEFENCES (II)



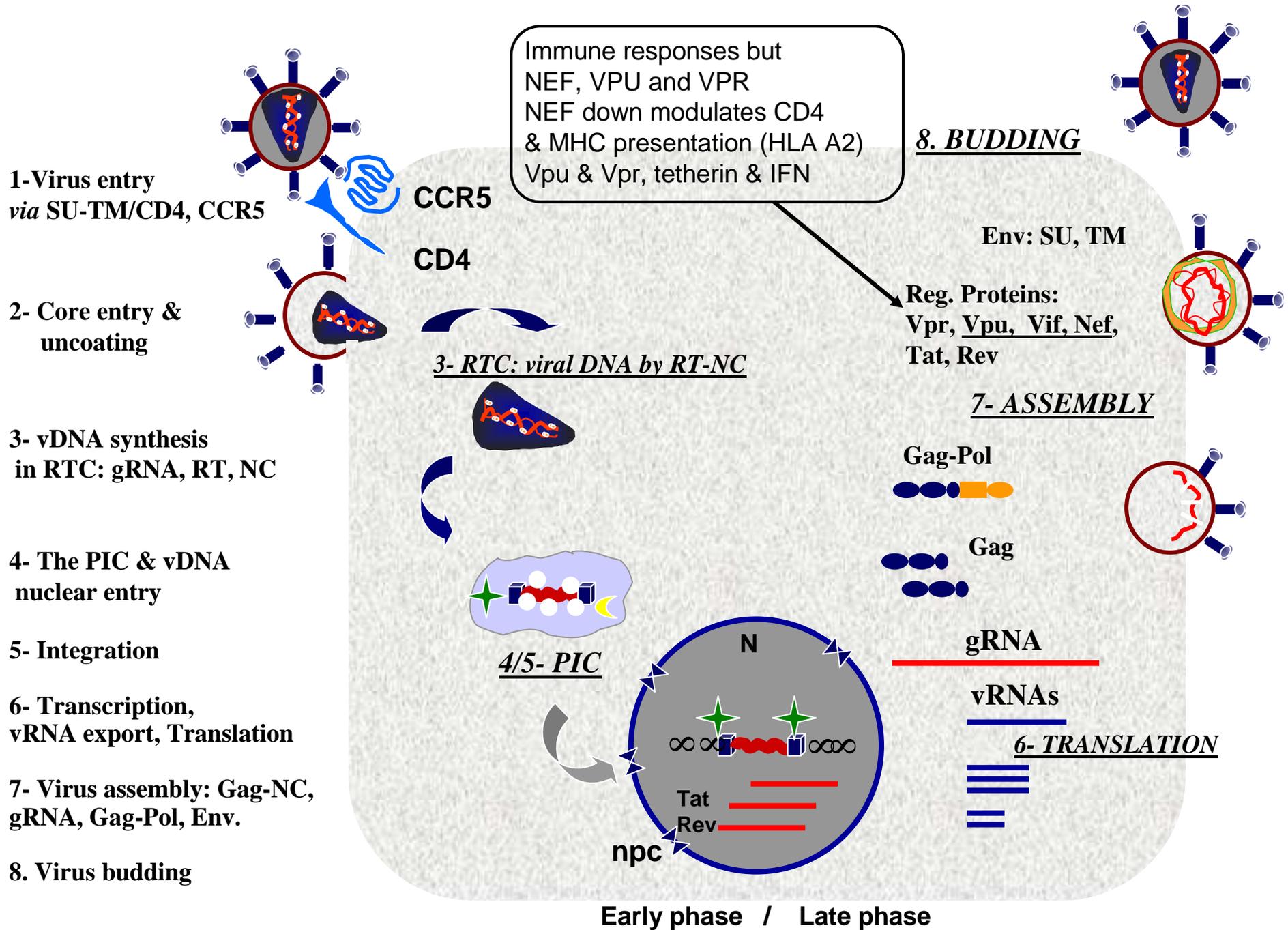
HIV-1 REPLICATION AND HOST INNATE DEFENCES (III)



HIV-1 REPLICATION AND HOST INNATE DEFENCES (IV)



HIV-1 REPLICATION, IMMUNE RESPONSES AND COUNTERMEASURES



HIV-1 REVERSE TRANSCRIPTION

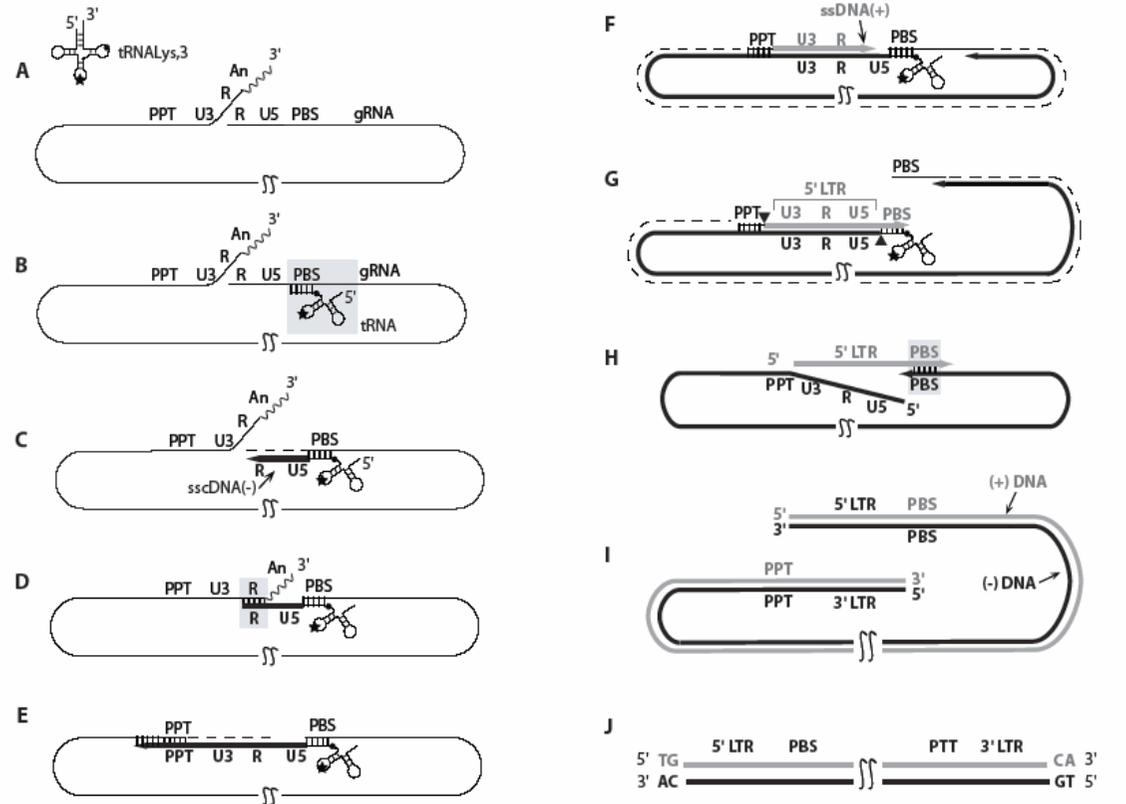
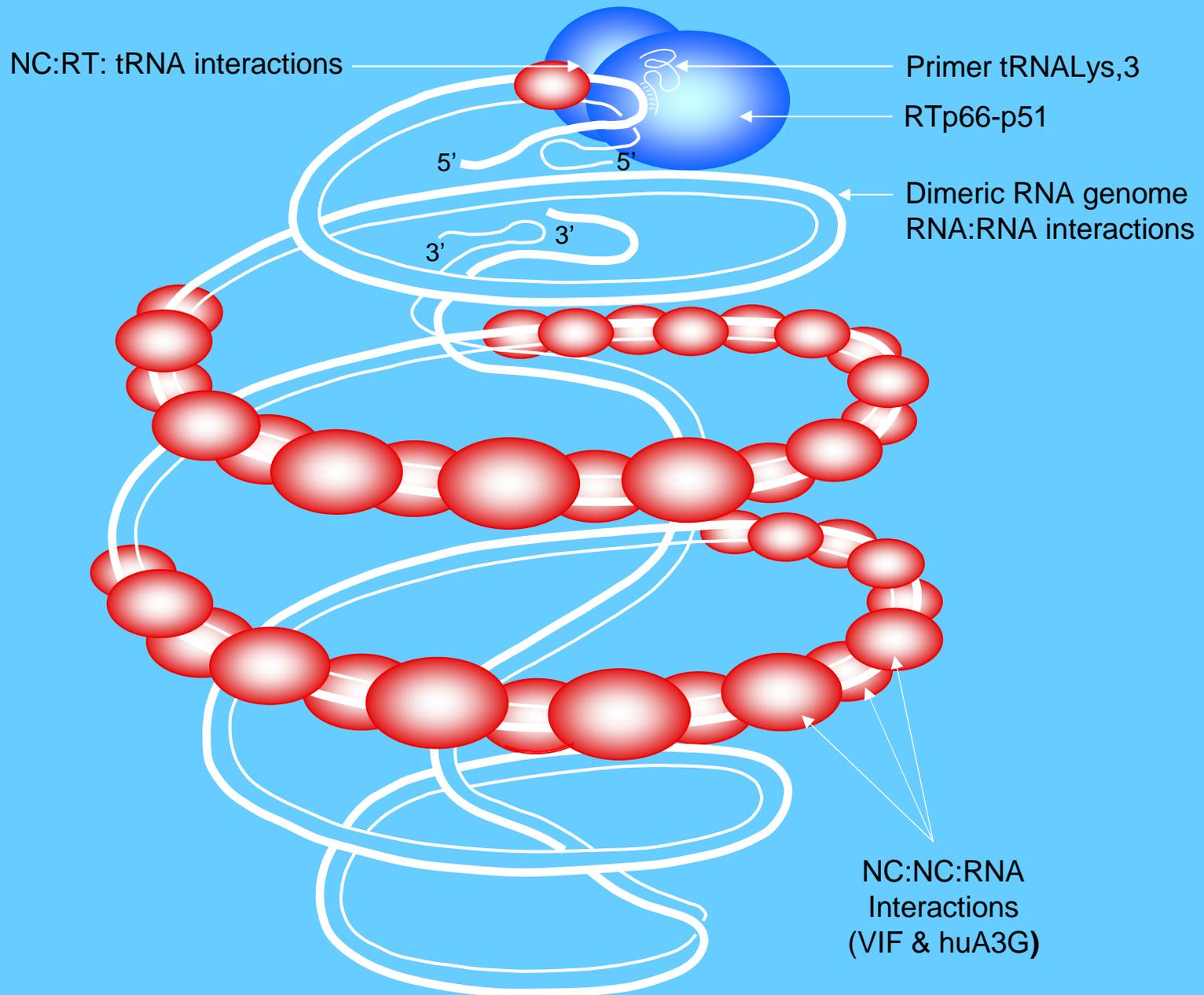
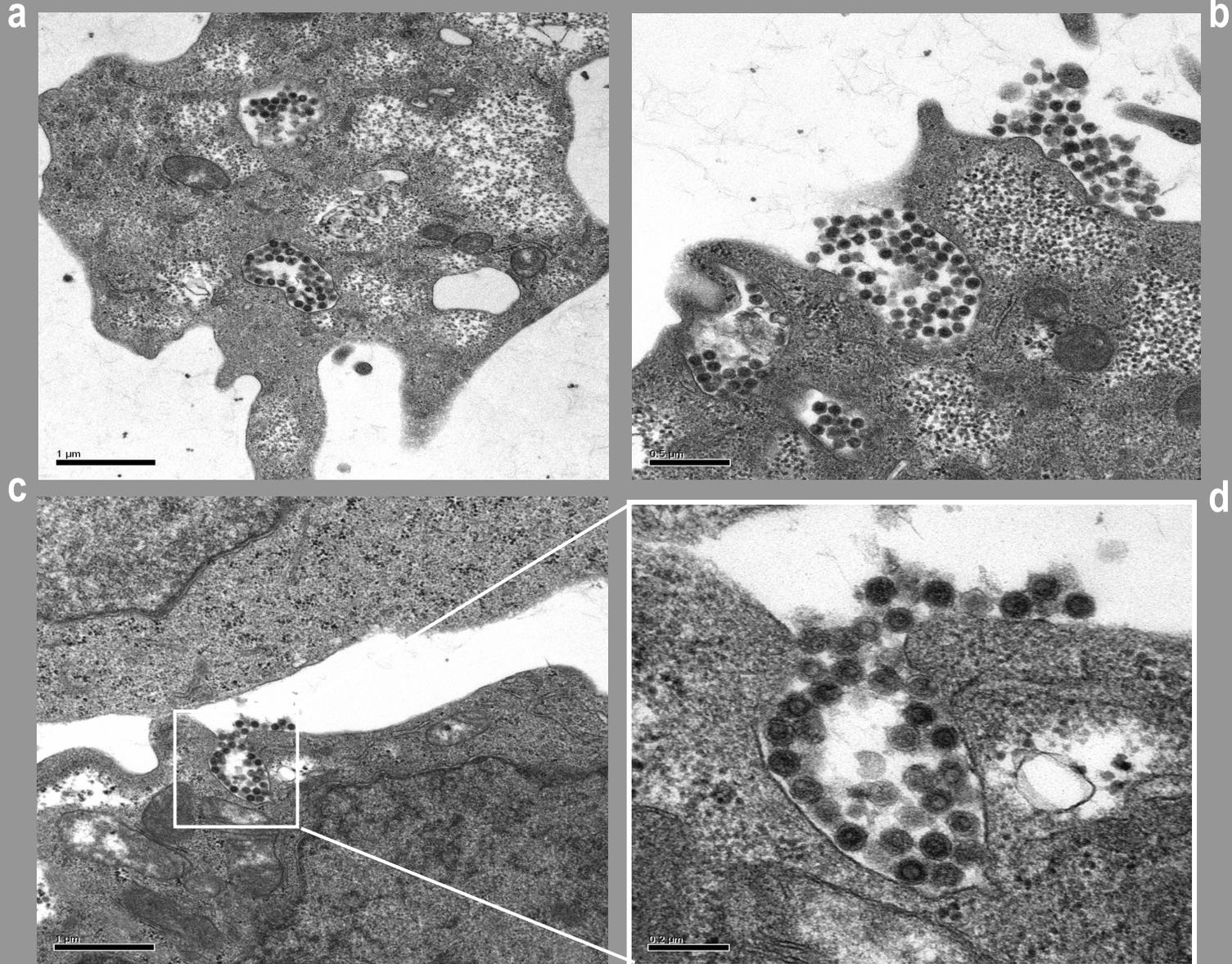


Figure 1 - Bampi et al

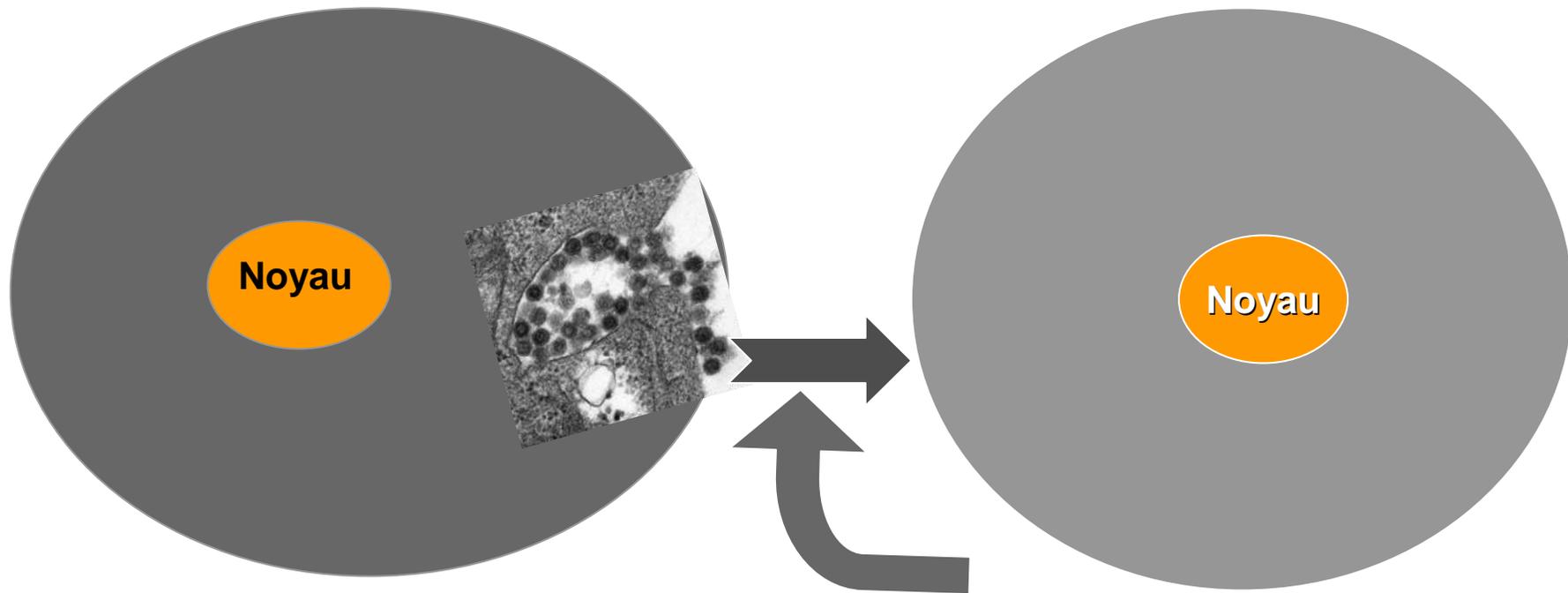
SCHEME OF THE HIV-1 REPLICATIVE MACHINE: RT, NC and gRNA INTERACTIONS



ME de cellules TCD4+ humaines infectées par HIV-1, libérant des virions



HIV-1 se transmet massivement et camouflé via une synapse



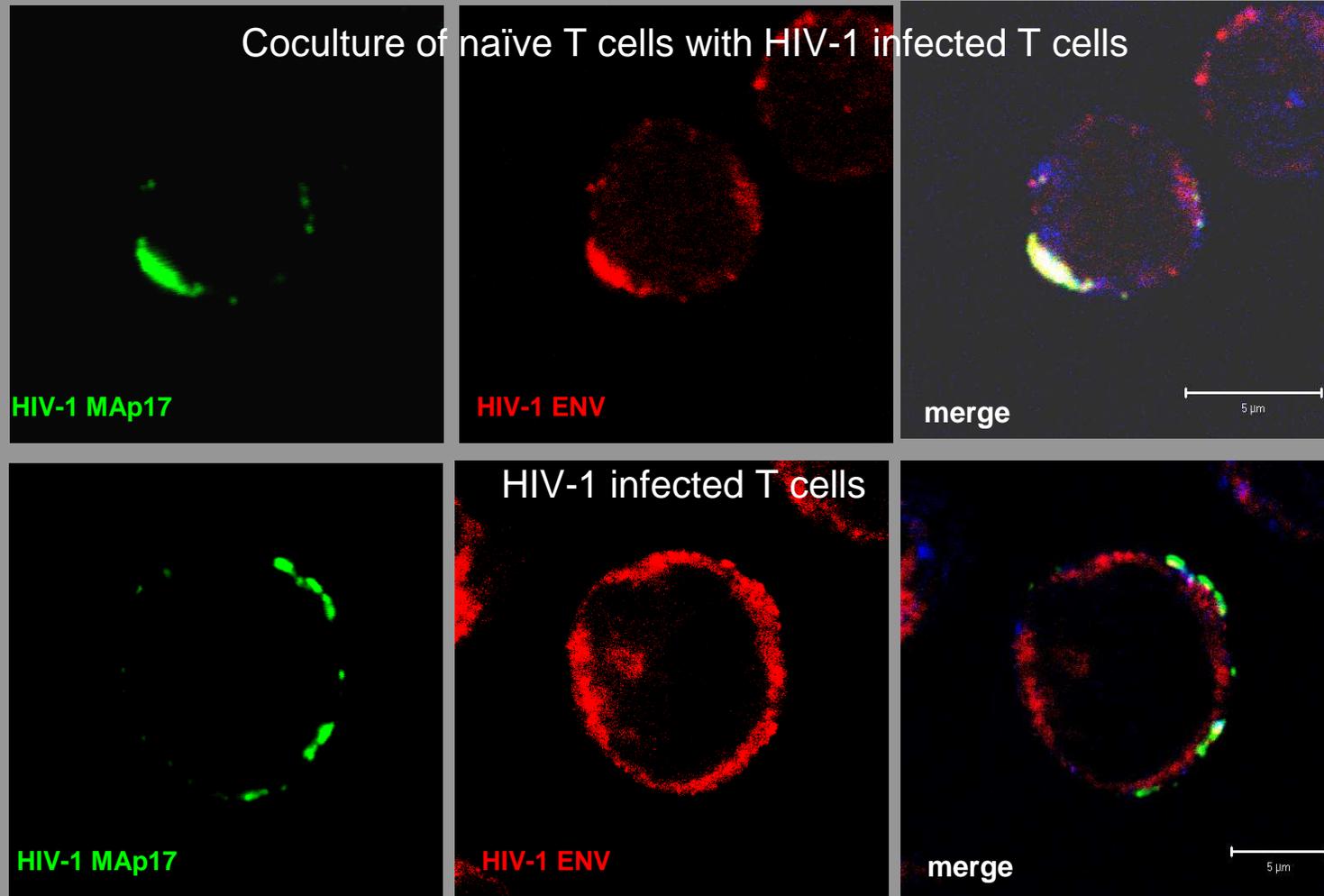
Cellule T CD4+ infectée par HIV-1;
Contact cellule-cellule induit

- Activation cellule naïve
- Polarisation production virale
- Infection massive, et camouflée

HIV-1 est transmis de façon efficace, sous forme de population virale hétérogène, par la synapse virale: d'où effet mitogène, Et multiples infections conduisant à la variabilité et la résistance à la réponse immune et aux anti-rétroviraux

-> ANTI-HIV-1 T20 (anti-fusion virus-cellule)
ANTI-HIV-1 NC (nM, contre le virus et la RTion).

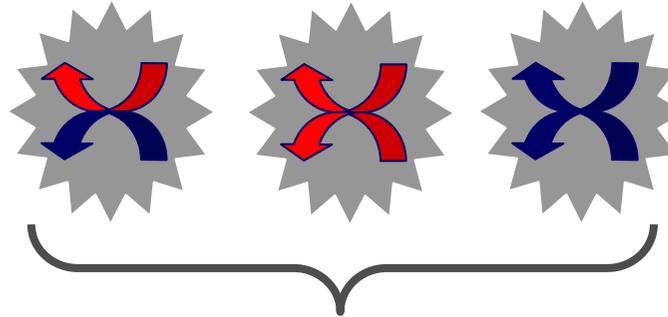
HIV-1 structural proteins accumulate at the contact site
between naïve and infected TCD4+ cells



HIV-1 VARIABILITY AND IMPLICATIONS

Genomic RNA in virions:

2 different or 2 identical



Cells infected by a unique virus or by two distinct viruses

**Virus population:
quasi-species & fitness**

VIRUS REPLICATION CAUSING GENETIC VARIABILITY DUE TO

- (i) Viral DNA synthesized with mutations, i.e. RT and APOBEC restriction factors (C to T) but modulated by VIF and NC.
- (ii) Genetic rearrangement by RTion recombination and vDNA maintenance (dimeric genome and NC factor);
- (iii) Trans-complementation within a virus population (NC factor);
- (iv) Possible co-infections by HCV, HBV with envelope pseudo-typing.

Circulating virus population with emerging resistance against immune defenses and HAART

Selection against innate defences and acquired immunity; camouflage. Resistances to HAART together with camouflage in reservoirs and persistence in macrophages and memory T cells (long living cells).

HIV-1 replication is highly dynamic and diverse:

Constant need of new drugs targeting HIV-1 components

HIV-1 et SIDA

- Le virus: il est simple et pathogène, se répand dans le monde, et circule via les relations sexuelles et les injections IV.

- Origine: Son origine directe est très certainement les SIV (cpz et agm) via des contacts entre communautés animales et humaines, datant des années 1950-1960 (Afrique centrale).

- Multiplication: HIV-1 utilise des stratégies de camouflage, et de désordre pour se multiplier grâce aux cellules du système immunitaire, se disséminer, et constituer des réservoirs viraux importants (quasi-espèces au sein des cellules du système immunitaire).

- Réponses immunes: HIV-1 échappe aux réponses immunes par plusieurs moyens, i.e. une atténuation médiée par NEF (MHC I & II), VPU et sans doute VPR (Tetherine, anti-IFN), par dérive génétique (mutations) lors des cycles de réplication, et aussi aux traitements anti-RT, -PR et -IN .

**- Anti-RV: En plus des anti-RT et anti-PR (Tri et multi-thérapies) de nouvelles molécules sont utilisées ou en cours de développement
contre l'intégrase # à long terme contre la NC
vaccins ?**

PRÉVENIR LE HIV-1-SIDA

UN REMÈDE GÉNÉRAL EXISTE: A FAIBLE COÛT ET AU FORT CONTENU SOCIO-ÉDUCATIF

#1 LA PRÉVENTION PAR LA CONNAISSANCE VIA L'ÉDUCATION FAMILIALE, ED NATIONALE ET VIA DES CAMPAGNES D'INFORMATION (TV, RADIO, RÉUNIONS DANS LE CADRE D'ASSOCIATIONS)

#2 COMPRENDRE LE VIRUS HIV-1, LES VIRUS EN GÉNÉRAL, LES IST ET

#3 GLOBALEMENT L'HYGIÈNE DE VIE

#4 LES VOIES DE TRANSMISSION DU HIV (IV, RELATIONS SEXUELLES, TRANSFUSIONS)

COMMENT PRÉVENIR LA TRANSMISSION DU HIV ? DES IST ?

ÉCHANGER, SE PARLER, EXPLIQUER, DÉBATTRE, ÉVITER LES PIÈGES.

#5 ET EN CAS D'INFECTION SE TRAITER, ET LE FAIRE SAVOIR
À SON (SES) PARTENAIRE(S) AMOUREUX ET SEXUELS

.....

DONC PRÉVENTION, PRÉVENTION, PRÉVENTION PAR L'ÉDUCATION

REMERCIEMENTS

LaboRetro INSERM, ENS, IFR 128 Lyon-Gerland

Jean-Luc Darlix, DRE, INSERM
Caroline Gabus, IE, ANRS/INSERM
*Carole Bampi, PhD, ANRS/FRM
Roland Ivanyi-Nagy; post-doc, EU
Delphine Muriaux, CR1 CNRS
Valérie Attuil, post-doc ANRS
Boyan Grigorov, post-doc Sidaction
Pascal Leblanc, CR1 CNRS
Sandrine Alais, IE INSERM
Christelle Daudé, TR INSERM
Andrea Cimorelli, CR1 CNRS
Caroline Goujon, post-doc NIH
Lise Rivière, PhD ENS
Vanessa ARFI, PhD NIH
Elise Hamard, PhD ENS

Financements

ANRS
CNRS
GIS Prions
INSERM
MINISTRY OF EDUCATION
HCL
FRM
Sidaction
EC 6th PCRDT (TRIoH)
NIH (USA)
FINOVI

Collaborations: Yves MELY et Hugues de ROCQUIGNY; Bernard ROQUES;
F BARRE-SINOUSSE, Philippe ROINGEARD, Gilles DIVITA, Vincent Calvez (France);
Marina Gottikh (Moscow); José ESTE (Spain);
Stuart LE GRICE, Robert GORELICK & Alan REIN (USA).



SIDACTION 2009 DU 20 AU 22 MARS