« LA PROTÉINE M2-1 DU VIRUS RESPIRATOIRE SYNCYTIAL : STRUCTURE ET INTERACTIONS AVEC DES PARTENAIRES VIRAUX ET/OU CELLULAIRES » PAR RICHARD CHARLES-ADRIEN

Discipline : sciences de la vie et de la santé, Laboratoire : Laboratoire de recherche Virologie et Immunologie moléculaire - VIM

Résumé

Le Virus Respiratoire Syncytial (VRS) est le principal agent responsable d'infections respiratoires sévères chez les nourrissons et
les veaux. Le génome du VRS est constitué d'un ARN simple brin de polarité négative qui est répliqué et transcrit par le complexe
ARN-polymérase viral (RdRp). Ce complexe est composé de la nucléoprotéine N, de la polymérase L, de la phosphoprotéine P et
du facteur anti-terminateur de transcription M2-1. Le but de ce travail était de mieux caractériser la structure et le fonctionnement
de deux protéines du complexe RdRp: P et M2-1. M2-1 est un tétramère constitué de 4

domaines : un « doigt de zinc », un
domaine d'oligomérisation hélicoïdal, une région flexible, un domaine globulaire interagissant avec l'ARN et P, et une région
C-terminale désordonnée. À partir de la structure cristalline de M2-1 pleine longueur, j'ai identifié des résidus critiques sur le doigt
de zinc et la région flexible pour l'activité d'anti-terminaison de transcription de M2-1. Par la suite j'ai identifié une région de P
critique pour l'interaction P - M2-1 et montre qu'elle est nécessaire au recrutement de M2-1 dans des corps d'inclusion
cytoplasmiques. Je montre également que la déphosphorylation de M2-1, nécessaire à la transcription virale, est modulée par un
complexe formé entre P et la phosphatase cellulaire PP1. Enfin, la cyclopamine, composé chimique naturel, inhibe la réplication du
VRS. Je démontre qu'une seule mutation R151K sur M2-1 est suffisante pour conférer une résistance virale à la cyclopamine. Ces
données ouvrent de nouvelles perspectives pour le développement de futures thérapies contre le VRS.

Abstract

Respiratory syncytial virus (RSV) is the leading cause of lower respiratory tract illness in infants and calves. The RSV genome
consists of a single strand, negative-sense RNA, which is replicated and transcribed by the viral RNA-dependent RNA polymerase
complex (RdRp). This complex is composed of the nucleoprotein N, the large protein L, the phosphoprotein P and the transcription
anti-terminator M2-1. The aim of this work was to better characterize the structure and function of P and M2-1. M2-1 is a tetramer
with 4 domains: a zinc-finger, a helical oligomerization domain, a flexible region, a RNA and P binding core domain and a
C-terminal disordered region. Based on the crystal structure of the full-length M2-1 protein, I identified residues in the zinc-finger
and the flexible loop critical for M2-1 antitermination activity. Then I identified a region of P critical for P – M2-1 interaction and show
that it is required for the recruitment of M2-1 to cytoplasmic inclusion bodies. I also show that M2-1 dephosphorylation, which is
critical for viral transcription, is modulated by a complex formed by P and the cellular phosphatase protein-1 (PP1). Finally
cyclopamine, a natural chemical compound, inhibits the RSV replication. I show that a

single R151K mutation in M2-1 is sufficient
to confer virus resistance to cyclopamine. These data open a new avenue for the development of future therapies against RSV
infection.

INFORMATIONS COMPLÉMENTAIRES

Jean-François ELEOUËT, DR2, Centre de Recherche INRA de Jouy-en-Josas, FRANCE - Directeur de these
Denis GERLIER, Directeur de recherche, Université Claude Bernard Lyon 1, FRANCE - Rapporteur
Marc JAMIN, Professeur, Université Grenoble Alpes, FRANCE - Rapporteur
Didier PONCET, Directeur de recherche, CNRS de Gif-Sur-Yvette, FRANCE - Examinateur
Pierre-Olivier VIDALAIN, Maître de conférences, Université Paris Descartes, FRANCE - Examinateur
Elyanne GAULT, Professeur, Université Versailles - Saint Quentin-en-Yvelynes, FRANCE - Examinateur

Contact : DSR - Service SFED : theses@uvsq.fr