



**HAL**  
open science

## **Etude fonctionnelle de la protéine M2-1 du virus respiratoire syncytial à l'aide d'un miniréplicon en cellules eucaryotes**

Charles-Adrien Richard, Marie-Lise Blondot, Jean Francois Eleouet

### ► **To cite this version:**

Charles-Adrien Richard, Marie-Lise Blondot, Jean Francois Eleouet. Etude fonctionnelle de la protéine M2-1 du virus respiratoire syncytial à l'aide d'un miniréplicon en cellules eucaryotes. 16. Journées Francophones de Virologie, 2014, Paris, France. Virologie, 18 (suppl.), pp.72, 2014, Virologie. <hal-01309646>

**HAL Id: hal-01309646**

**<https://hal.science/hal-01309646v1>**

Submitted on 2 Jun 2020

**HAL** is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.



Distributed under a Creative Commons CC BY-SA 4.0 - Attribution - ShareAlike - International License

# ÉTUDE FONCTIONNELLE DE LA PROTÉINE M2-1 DU VIRUS RESPIRATOIRE SYNCYTIAL (VRS) À L' AIDE D' UN MINIRÉPLICON EN CELLULES EUCARYOTES



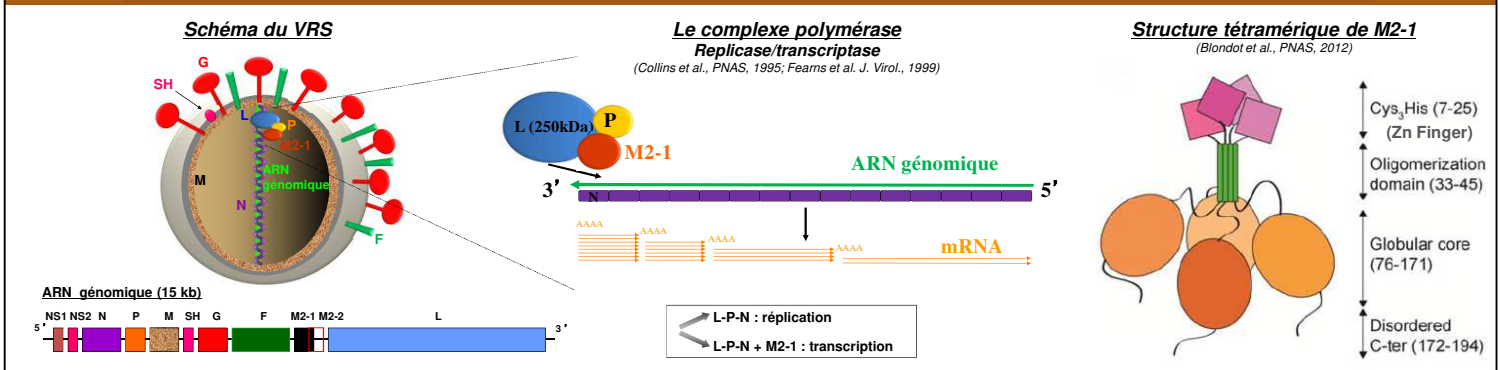
CA. Richard, ML. Blondot, JF. Eléouët

Unité de Virologie et Immunologie Moléculaires (UR892), INRA, 78352 Jouy-en-Josas Cedex, France.

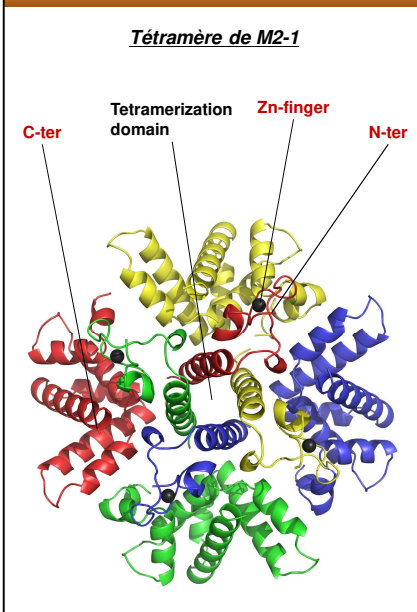
Le virus respiratoire syncytial (VRS) est le principal agent responsable de maladies respiratoires sévères (bronchiolite, pneumonie) chez le jeune, principalement dans deux espèces, les bovins et l' homme. En l' absence de vaccins efficaces contre ce virus, le développement rationnel de traitements antiviraux constitue un enjeu de taille. Appartenant à la famille des *Paramyxoviridae*, le VRS est un virus enveloppé dont le génome est constitué d' un ARN simple brin de polarité négative, codant pour 11 protéines. Le génome du VRS est transcrit et répliqué par le complexe ARN polymérase dépendant de l' ARN viral. Ce complexe est composé de la nucléoprotéine N, de la protéine L, de la phosphoprotéine P et du facteur de transcription M2-1 qui assure la processivité de la polymérase au cours de la transcription virale. Le complexe polymérase, ne présentant pas d' équivalent dans la cellule, constitue une cible privilégiée pour le développement d' inhibiteurs. Une meilleure compréhension des mécanismes d' interaction entre les protéines du complexe polymérase est donc indispensable afin d' identifier des cibles potentielles.

Le groupe de John N. Barr (Leeds University, UK) a résolu la structure cristalline tridimensionnelle de la protéine M2-1, dans sa forme tétramérique natif avec une résolution de 2,5Å. Nous nous sommes associés à ce laboratoire afin d' étudier le rôle fonctionnel de certains résidus de la protéine M2-1. Le rôle critique de certains résidus a été abordé par mutagenèse dirigée et l' utilisation d' un miniréplicon accompagné d' un contrôle d' expression par western blotting des protéines mutées.

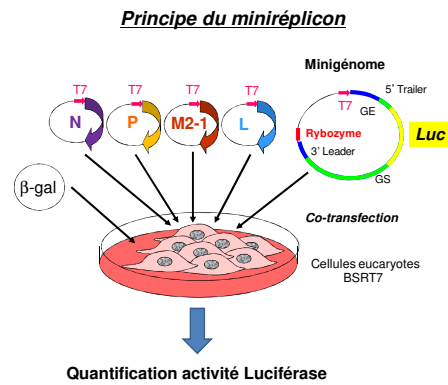
## Représentation schématique du VRS, du complexe polymérase et de la protéine M2-1



## Structure cristallographique



## Etude fonctionnelle de mutants ponctuels de la protéine M2-1



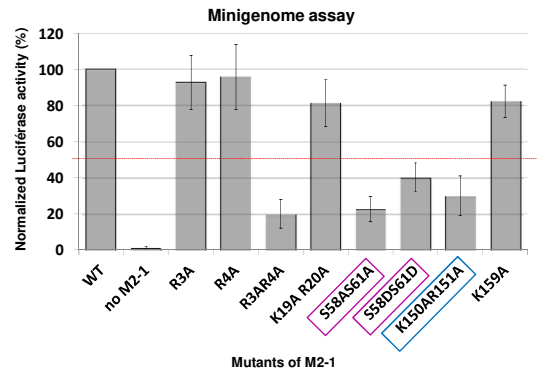
Des cellules sont cotransfectées avec des plasmides exprimant les protéines du complexe polymérase, associé à un plasmide exprimant un ARN « minigénome » contenant la séquence du gène rapporteur luciférase. Une fois formé, le complexe polymérase reconnaît l' ARN « minigénome » et permet l' expression de la luciférase. L' activité de la luciférase est enfin mesurée par absorbance reflétant ainsi l' activité du complexe polymérase.

### Effet des mutations de M2-1 sur la transcription du VRS

Le test minigénome permet d' identifier certains résidus critiques pour l' activité polymérase, notamment :

- Des résidus basiques comme R3, R4, K150 et R151,
- Des résidus polaires phosphorylables comme S58 et S61.

Au cours des essais de minigénome, les niveaux d' expression de la protéine M2-1 sauvage (WT) et des mutants sont analysés par Western blotting.



## Localisation intra-cellulaire de la protéine M2-1

**Observation par immunofluorescence sur cellules eucaryotes BSRT7 cotransfectées avec N, P, L et M2-1.**

α-M2-1      α-N      Merge

**M2-1<sup>WT</sup> + N**

**M2-1<sup>R3A R4A</sup> + N**

**M2-1<sup>K150A R151A</sup> + N**

Lors de la transfection des cellules par les protéines N, P, L et M2-1, on observe l' apparition de corps d' inclusion cytoplasmiques regroupant les protéines virales. Ces structures sont visibles aussi lors de l' infection et sont considérées comme des sites de synthèse de l' ARN viral.

## Conclusions et perspectives

➤ Nous avons montré l' importance de certains résidus d' acides aminés ayant un rôle critique dans l' activité de la protéine M2-1 en tant que facteur de transcription, notamment :

- Des résidus basiques comme K150 ou R151,
- Des résidus phosphorylables comme S58 et S61.

Ces résidus sont susceptibles d' interagir avec des partenaires.

➤ Nos prochains objectifs seront d' identifier le ou les partenaires (protéines et/ou ARN) de ces domaines et de montrer leur rôle fonctionnel.

